

M. ABDELALI H. BENZINE-CHALLAM A. MADOU-DEKAR

Cours illustrés à l'usage des étudiants de 1^{ère} année des Sciences Médicales,
des Sciences Biologiques et de Médecine Vétérinaire

Cytologie & Physiologie Cellulaire

Office des Publications Universitaires

UNIVERSITE BENYOUCEF BENKHEDDA

Faculté de Médecine d'Alger
Centre Biomédical – Dergana

M. ABDELALI - H. CHALLAM-BENZINE - A. DEKAR-MADOUI

Cours illustrés à l'usage des étudiants de 1^{ère} année
des Sciences Médicales, des Sciences Biologiques
et de Médecine Vétérinaire

CYTOLOGIE & PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Fascicule 2

5^{ème} Réimpression



OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES

©Office des Publications Universitaires : 10-2013

* EDITION : 1.04.4863

I.S.B.N : 978.9961.0.2002.9

Dépôt légal: 2965/2006

©Office des Publications Universitaires : 10-2013

* EDITION : 1.04.4863

I.S.B.N : 978.9961.0.2002.9

Dépôt légal: 2965/2006

SOMMAIRE

CHAPITRE IV : LE HYALOPLASME

7

INTRODUCTION.....	7
1. STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE	7
1.1 Structure au microscope photonique.....	7
1.2 Ultrastructure.....	7
1.2.1 Les structures granulaires.....	7
1.2.2 Les structures fibrillaires.....	8
2. COMPOSITION CHIMIQUE.....	8
2.1 Isolement du hyaloplasme.....	8
2.2 Analyse chimique.....	8
3. PROPRIETES.....	8
3.1 Viscosité.....	8
3.2 Mobilité	9
4. ROLES.....	9

CHAPITRE V : LE CYTOSQUELETTE

13

INTRODUCTION.....	13
A. LES MICROTUBULES	13
1. LES MICROTUBULES LABILES	13
1.1 Ultrastructure et architecture moléculaire.....	13
1.2 Biogenèse.....	15
1.3 Propriétés.....	15
1.4 Protéines associées.....	15
2. LES MICROTUBULES STABLES.....	15

2.1 Les centrioles.....	15
2.1.1 Ultrastructure et protéines associées.....	17
2.1.2 Biogenèse.....	17
2.1.3 Rôles	17
2.2 Les cils et les flagelles.....	19
2.2.1 Ultrastructure et protéines associées.....	19
2.2.2 Rôles.....	20
2.2.3 Pathologie.....	20
B. LES MICROFILAMENTS FINS D'ACTINE	20
1. ULTRASTRUCTURE ET ARCHITECTURE MOLECULAIRE.....	20
2. PROPRIETES.....	20
3. VARIETES ET DISTRIBUTION.....	22
4. PROTEINES ASSOCIEES.....	22
C. LES MICROFILAMENTS EPAIS DE MYOSINE.....	25
D. LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES.....	25
1. ULTRASTRUCTURE ET PROPRIETES.....	25
2. CLASSIFICATION.....	29
E. FONCTIONS : LA BIOMOTILITE.....	29

CHAPITRE VI : LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE 35

INTRODUCTION.....	35
A. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE.....	35
1. DEFINITION.....	35
2. ULTRASTRUCTURE.....	35
3. COMPOSITION CHIMIQUE.....	35
3.1 Technique d'isolement.....	37
3.2 Analyse biochimique.....	37
4. FONCTIONS.....	37
4.1 Fonctions spécifiques au REG.....	37

4.1.1 Translocation et élongation des protéines solubles.....	37
4.1.2 Glycosylation et acquisition de la configuration définitive.....	38
4.2 Fonctions spécifiques au REL.....	39
4.2.1 Biosynthèse des phospholipides membranaires.....	39
4.2.2 La synthèse des hormones stéroïdes.....	40
4.2.3 Stockage du Ca^{++} intracellulaire.....	40
4.2.4 La détoxification.....	40
B. L'APPAREIL DE GOLGI.....	41
1. DEFINITION.....	41
2. ULTRASTRUCTURE.....	41
3. COMPOSITION CHIMIQUE.....	41
3.1 Technique d'isolement.....	41
3.2 Analyse chimique.....	42
4. FONCTIONS.....	44
4.1 La O-glycosylation.....	44
4.2 Emballage des produits de synthèse.....	44
4.3 Phosphorylation des glycoprotéines enzymatiques solubles des lysosomes.....	45
4.4 Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire.....	45
4.5 Tri et adressage des produits de sécrétion.....	45
C. LES LYSOSOMES.....	48
1. DEFINITION.....	48
2. COMPOSITION CHIMIQUE.....	48
2.1 Technique d'isolement.....	48
2.2 Analyse chimique.....	48
3. ULTRASTRUCTURE ET CLASSIFICATION.....	49
4. ROLES.....	51
5. BIOGENESE.....	52
6. PATHOLOGIE.....	52

LE HYALOPLASME

INTRODUCTION

Le hyaloplasme est le milieu cellulaire dans lequel baignent tous les organites cytoplasmiques et le noyau. Chez les eucaryotes, le hyaloplasme est limité extérieurement par la membrane plasmique et séparé du noyau, par l'enveloppe nucléaire. Pour les procaryotes, le hyaloplasme correspond au milieu où baignent les organites cellulaires.

1. STRUCTURE ET ULTRASTRUCTURE

1.1 Structure au microscope photonique

Le hyaloplasme se présente comme un milieu homogène d'aspect astructuré. Son aspect varie suivant le type cellulaire et les conditions physiologiques de la cellule.

Après coloration, on peut observer selon le type cellulaire, des particules de glycogène comme dans les cellules hépatiques, des globules lipidiques dans les cellules adipeuses et, des grains de sécrétion ou grains de zymogène renfermant des enzymes (cellules acineuses du pancréas).

1.2 Ultrastructure

Après coloration, la microscopie électronique à transmission, révèle des structures granulaires et des structures fibrillaires représentant les structures figurées du hyaloplasme.

1.2.1 Les structures granulaires

Les particules de glycogène le glycogène est un polymère de glucose constitué de résidus glucosyl reliés les uns aux autres. Il se présente sous forme de particules denses aux électrons mesurant 150 à 300 Å de diamètre et pouvant être dispersées comme dans les cellules musculaires et les polynucléaires (globules blancs) ou groupés en rosettes de 1000-2000 Å de diamètre dans les hépatocytes.

Les globules ou enclaves lipidiques apparaissent comme de grosses gouttelettes ou vacuoles sphériques, non limitées par une membrane et denses aux électrons. Ces vacuoles stockent les acides gras sous forme de triglycérides.

Les globules lipidiques sont présents dans tous les types cellulaires, ils sont néanmoins plus abondants dans les adipocytes et les hépatocytes.

Les ribosomes sont révélés comme de petites granulations correspondant aux ribosomes liés à l'ARN m (polyribosomes), ou aux petites et grosses sous unités libres.

1.2.2 Les structures fibrillaires

Les structures fibrillaires sont représentées par les différentes protéines qui structurent les éléments du cytosquelette et permettent la biomotilité intracellulaire (voir chapitre V).

2. COMPOSITION CHIMIQUE

2.1 Isolement du hyaloplasme

Par la technique d'ultracentrifugation différentielle on obtient à la troisième centrifugation d'un homogénat cellulaire, un surnageant correspondant à la solution aqueuse du hyaloplasme c'est-à-dire dépourvue des éléments du cytosquelette ; ceux-ci étant récupéré à la première centrifugation avec la fraction noyaux (*Planche I*).

2.2 Analyse chimique

Le hyaloplasme renferme essentiellement de l'eau (85%), des protéines de structure et fonctionnelles (enzymes de : la protéosynthèse, la glycolyse, la synthèse des acides gras...), des acides aminés, des acides nucléiques (ARNt, ARNm, ARNr), des nucléotides (ATP/ADP, GTP/GDP...), des sucres simples ou complexes (glycogène), des acides gras, des lipides, des ions (Ca^{++} , K^+ , Na^+ , H^+ , OH^- ...).

Ces éléments sont soit synthétisés par la cellule, soit importés du milieu extracellulaire à travers la membrane plasmique, par des processus perméatifs spécifiques ou par endocytose.

Les quantités de ces composants hyaloplasmiques varient au cours de la vie cellulaire et de ses états physiologiques. Ainsi, l'analyse en microscopie électronique d'hépatocytes d'un rongeur (souris) maintenu au jeûne durant trois jours, révèle que les particules de glycogène disparaissent et les globules lipidiques deviennent plus nombreux comparé à l'animal nourri normalement.

3. PROPRIETES

3.1 Viscosité

Suivant l'activité physiologique de la cellule (division cellulaire, sécrétion, mouvement...) et l'état du cytosquelette, le hyaloplasme peut avoir une consistance visqueuse, qualifiée de *gel*, ou fluide, qualifiée de *sol*. Ces états sont essentiellement liés aux protéines du cytosquelette. Ainsi, selon que les macromolécules protéiques d'actine fibreuse soient liées par des liaisons fortes (état gel) ou faibles (état sol), la consistance du hyaloplasme varie d'un point à un autre et peut passer localement et très rapidement de l'état gel à l'état sol et vice-versa (voir chapitre V).

Cette réversibilité dépendra également d'un certain nombre de facteurs : lumière, température, hormones, O_2 , CO_2 et agents chimiques (anesthésiques, caféine ...)

3.2 Mobilité

Le hyaloplasme est doté de courants cytoplasmiques ; il coule lentement dans la cellule sans déformation de la membrane plasmique, en entraînant dans ce mouvement interne les structures en suspension : mitochondries, ribosomes, vésicules...

Dans les mouvements structurés tels que les mouvements amœboïdes des cellules phagocytaires, ce sont les éléments du cytosquelette et leurs protéines associées (protéines motrices) qui interviennent dans la formation des voiles hyaloplasmiques (voir chapitre V).






	<p>1. Après préparation de l'homogénat, les produits cellulaires obtenus sont mis en solution et ultra centrifugés à 1000g pendant 10 minutes.</p>
	<p>2. Le culot obtenu renferme le cytosquelette, les noyaux et les particules de taille comprise entre 3 et 10 μm.</p>
	<p>3. La deuxième UCD, 100 000g pendant 01 heure, permet de séparer les mitochondries, les lysosomes et les peroxysomes, particules de taille comprise entre 0,2μm et 1μm.</p>
	<p>4. A la troisième UCD, 100 000g pendant 01 heure, le culot contient les grands polysomes particules d'environ 0,01μm. Le surnageant correspond à la solution aqueuse du hyaloplasme.</p>
	<p>5. La dernière UCD donne un surnageant cytosolique contenant des ions inorganiques (Ca^{++} ; Mg^{++}..) et des métabolites (acides aminés, acides gras, glucides) et un culot de petits polysomes, des sous unités ribosomales et des macromolécules de grosse taille.</p>

Planche I : Procédé d'isolement des composants du hyaloplasme.






	<p>1. Après préparation de l'homogénat, les produits cellulaires obtenus sont mis en solution et ultra centrifugés à 1000g pendant 10 minutes.</p>
	<p>2. Le culot obtenu renferme le cytosquelette, les noyaux et les particules de taille comprise entre 3 et 10 μm.</p>
	<p>3. La deuxième UCD, 100 000g pendant 01 heure, permet de séparer les mitochondries, les lysosomes et les peroxysomes, particules de taille comprise entre 0,2μm et 1μm.</p>
	<p>4. A la troisième UCD, 100 000g pendant 01 heure, le culot contient les grands polysomes particules d'environ 0,01μm. Le surnageant correspond à la solution aqueuse du hyaloplasme.</p>
	<p>5. La dernière UCD donne un surnageant cytosolique contenant des ions inorganiques (Ca^{++} ; Mg^{++}..) et des métabolites (acides aminés, acides gras, glucides) et un culot de petits polysomes, des sous unités ribosomales et des macromolécules de grosse taille.</p>

Planche I : Procédé d'isolement des composants du hyaloplasme.

Chapitre IV

4. ROLES

Le hyaloplasme assure plusieurs fonctions :

- c'est le milieu où baignent les organites cellulaires ; il constitue avec sa composante fibrillaire un support dynamique.
- c'est à partir du hyaloplasme que les différents organites prélèvent toutes les substances nutritives nécessaires à leur fonctionnement et y rejettent leurs déchets.
- il est le siège de la transformation de l'énergie chimique en énergie mécanique ce qui permet les différents mouvements de la cellule (contraction musculaire, mouvement amœboïde, déplacement par mouvement flagellaire, battements ciliaires...).
- grâce aux milliers d'enzymes qu'il contient, il est le siège de nombreuses réactions chimiques dont l'ensemble constitue le métabolisme cellulaire.
Le métabolisme associe à la fois l'anabolisme et le catabolisme.
L'anabolisme correspond à toutes les voies de synthèse de molécules organiques (certains acides aminés, protéines, glucides, lipides et les nucléotides).
Le catabolisme correspond aux voies de dégradation de ces molécules organiques.
Ces réactions métaboliques ne sont pas tout à fait indépendantes les unes des autres, elles possèdent un carrefour commun et obligatoire : le glucose 6 phosphate (**Planche II**).
- le hyaloplasme permet l'adressage des protéines synthétisées ; en effet après leur traduction, les protéines synthétisées comportent des séquences d'adressage qui leur permettent d'être orientées vers des compartiments cellulaires spécifiques. Par exemple, la séquence signal SRP facilite l'adressage vers le REG et l'entrée dans les citernes ergastoplasmiques (voir chapitre VI) alors que la séquence signal NLS-BP est une séquence d'adressage vers le noyau et le nucléole à travers des pores nucléaires. Nous y reviendrons dans les chapitres suivants.

réserve de matériel

carrefour de voie métabolique

transduction du signal

Chapitre IV

4. ROLES

Le hyaloplasme assure plusieurs fonctions :

- c'est le milieu où baignent les organites cellulaires ; il constitue avec sa composante fibrillaire un support dynamique.
- c'est à partir du hyaloplasme que les différents organites prélèvent toutes les substances nutritives nécessaires à leur fonctionnement et y rejettent leurs déchets.
- il est le siège de la transformation de l'énergie chimique en énergie mécanique ce qui permet les différents mouvements de la cellule (contraction musculaire, mouvement amœboïde, déplacement par mouvement flagellaire, battements ciliaires...).
- grâce aux milliers d'enzymes qu'il contient, il est le siège de nombreuses réactions chimiques dont l'ensemble constitue le métabolisme cellulaire.
Le métabolisme associe à la fois l'anabolisme et le catabolisme.
L'anabolisme correspond à toutes les voies de synthèse de molécules organiques (certains acides aminés, protéines, glucides, lipides et les nucléotides).
Le catabolisme correspond aux voies de dégradation de ces molécules organiques.
Ces réactions métaboliques ne sont pas tout à fait indépendantes les unes des autres, elles possèdent un carrefour commun et obligatoire : le glucose 6 phosphate (*Planche II*).
- le hyaloplasme permet l'adressage des protéines synthétisées ; en effet après leur traduction, les protéines synthétisées comportent des séquences d'adressage qui leur permettent d'être orientées vers des compartiments cellulaires spécifiques. Par exemple, la séquence signal SRP facilite l'adressage vers le REG et l'entrée dans les citernes ergastoplasmiques (voir chapitre VI) alors que la séquence signal NLS-BP est une séquence d'adressage vers le noyau et le nucléole à travers des pores nucléaires. Nous y reviendrons dans les chapitres suivants.

réserve de matériel

carrefour de voie métabolique

transduction du signal

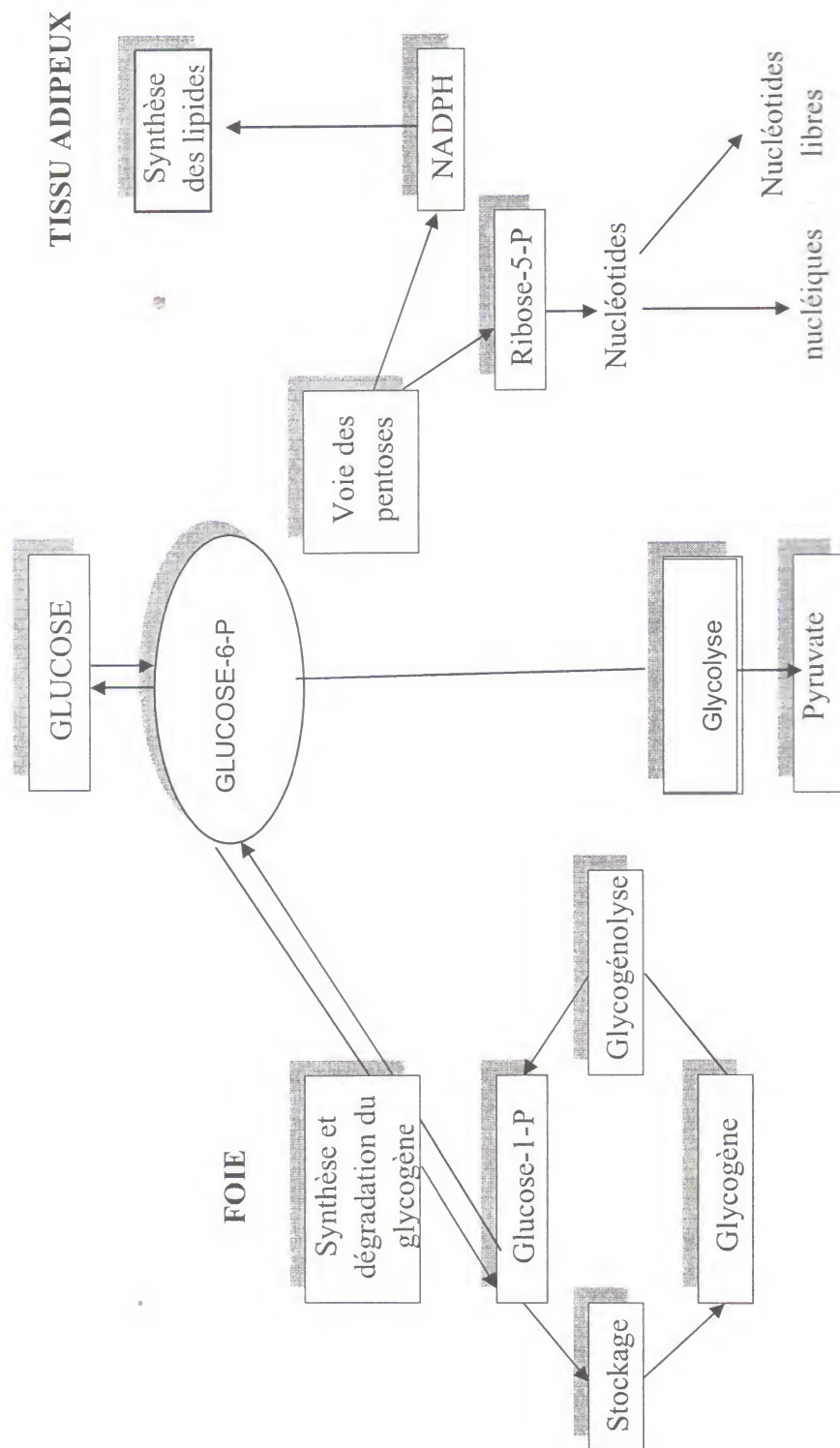


Planche II: les 3 voies métaboliques dont le Glucose-6-phosphate est le carrefour obligatoirement.

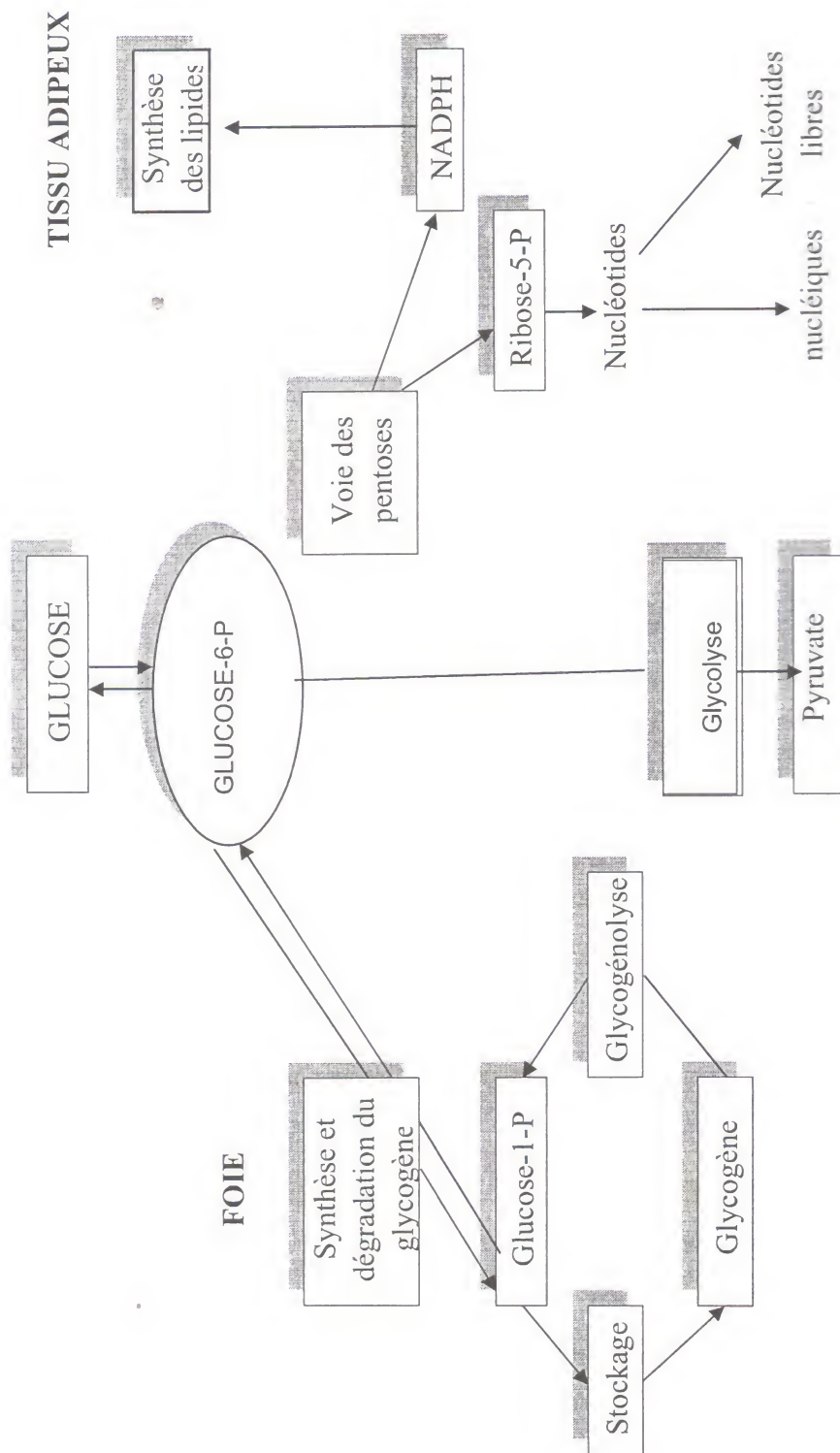


Planche II: les 3 voies métaboliques dont le Glucose-6-phosphate est le carrefour obligatoirement.

Ce qu'il faut retenir :

Le hyaloplasme n'a pas d'ultrastructure particulière. Il contient des produits de stockage tels les inclusions lipidiques et les particules de glycogène ; il renferme également des complexes ribonucléoprotéiques et des complexes enzymatiques. L'ensemble baigne dans un milieu aqueux.

Il est fortement structuré par des polymères protéiques filamenteux constituant le cytosquelette.

Le compartiment hyaloplasmique joue un rôle métabolique majeur tant par le catabolisme comme la glycolyse, que par l'anabolisme comme les synthèses protéique, lipidique et glucidique.

Il correspond également à un site de production d'énergie indispensable aux différents mouvements cellulaires.

Ce qu'il faut retenir :

Le hyaloplasme n'a pas d'ultrastructure particulière. Il contient des produits de stockage tels les inclusions lipidiques et les particules de glycogène ; il renferme également des complexes ribonucléoprotéiques et des complexes enzymatiques. L'ensemble baigne dans un milieu aqueux.

Il est fortement structuré par des polymères protéiques filamenteux constituant le cytosquelette.

Le compartiment hyaloplasmique joue un rôle métabolique majeur tant par le catabolisme comme la glycolyse, que par l'anabolisme comme les synthèses protéique, lipidique et glucidique.

Il correspond également à un site de production d'énergie indispensable aux différents mouvements cellulaires.

LE CYTOSQUELETTE

INTRODUCTION

C'est un ensemble de filaments protéiques présents dans le nucléoplasme et dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Ces filaments peuvent être dispersés ou organisés en faisceaux ou en structures complexes (centrioles, cils et flagelles).

Le cytosquelette permet aux cellules eucaryotes de s'adapter à une grande variété de changements morphologiques et d'effectuer des mouvements coordonnés. Il est formé de microtubules, microfilaments fins d'actine, microfilaments épais de myosine et filaments intermédiaires.

A. LES MICROTUBULES

Toutes les cellules eucaryotes à l'exception des érythrocytes contiennent des microtubules. Il existe deux variétés de microtubules : les microtubules labiles (instables) sont isolés les uns des autres et souvent de grande taille comme dans l'axone des neurones. Ils parcourent le hyaloplasme des cellules en interphase et forment un fuseau dans les cellules mitotiques. Les microtubules stables sont organisés en structures complexes (les centrioles et leurs annexes, les cils et les flagelles).

1. LES MICROTUBULES LABILES

1.1 Ultrastructure et architecture moléculaire

Sur coupes minces après coloration positive, les microtubules apparaissent comme des cylindres creux mesurant 25nm de diamètre et 5nm d'épaisseur, leur longueur est variable.

Après coloration négative, la paroi d'un microtubule apparaît formée de 13 protofilaments, chaque protofilament est constitué de la succession de deux types de protéines globulaires : la tubuline α et la tubuline β .

Les tubulines α et β s'associent en dimères, en présence de GTP et d'ions Mg^{++} . Les dimères s'alignent pour constituer le protofilament. 13 protofilaments s'assemblent latéralement pour former le microtubule (Schéma 1).

Les 13 protofilaments sont décalés les uns par rapport aux autres suite à la disposition hélicoïdale des tubulines α et β .

1.2 Biogenèse

Les micrographies de microscopie électronique montrent que les microtubules prennent naissance au voisinage du centrosome, plus précisément dans le matériel péri centriolaire appelé aussi centre organisateur des microtubules (COMT ou MTOC). Il s'agit d'une matrice protéique composée essentiellement d'une isoforme de tubuline : la tubuline γ (Schéma 2).

GDP = guanosine diphosphate
GTP = guanosine triphosphate

LE CYTOSQUELETTE

INTRODUCTION

C'est un ensemble de filaments protéiques présents dans le nucléoplasme et dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Ces filaments peuvent être dispersés ou organisés en faisceaux ou en structures complexes (centrioles, cils et flagelles).

Le cytosquelette permet aux cellules eucaryotes de s'adapter à une grande variété de changements morphologiques et d'effectuer des mouvements coordonnés. Il est formé de microtubules, microfilaments fins d'actine, microfilaments épais de myosine et filaments intermédiaires.

A. LES MICROTUBULES

Toutes les cellules eucaryotes à l'exception des érythrocytes contiennent des microtubules. Il existe deux variétés de microtubules : les microtubules labiles (instables) sont isolés les uns des autres et souvent de grande taille comme dans l'axone des neurones. Ils parcourent le hyaloplasme des cellules en interphase et forment un fuseau dans les cellules mitotiques. Les microtubules stables sont organisés en structures complexes (les centrioles et leurs annexes, les cils et les flagelles).

1. LES MICROTUBULES LABILES

1.1 Ultrastructure et architecture moléculaire

Sur coupes minces après coloration positive, les microtubules apparaissent comme des cylindres creux mesurant 25nm de diamètre et 5nm d'épaisseur, leur longueur est variable.

Après coloration négative, la paroi d'un microtubule apparaît formée de 13 protofilaments, chaque protofilament est constitué de la succession de deux types de protéines globulaires : la tubuline α et la tubuline β .

Les tubulines α et β s'associent en dimères, en présence de GTP et d'ions Mg^{++} . Les dimères s'alignent pour constituer le protofilament. 13 protofilaments s'assemblent latéralement pour former le microtubule (Schéma 1).

Les 13 protofilaments sont décalés les uns par rapport aux autres suite à la disposition hélicoïdale des tubulines α et β .

1.2 Biogenèse

Les micrographies de microscopie électronique montrent que les microtubules prennent naissance au voisinage du centrosome, plus précisément dans le matériel péri centriolaire appelé aussi centre organisateur des microtubules (COMT ou MTOC). Il s'agit d'une matrice protéique composée essentiellement d'une isoforme de tubuline : la tubuline γ (Schéma 2).

GDP = guanosine diphosphate
GTP = guanosine triphosphate

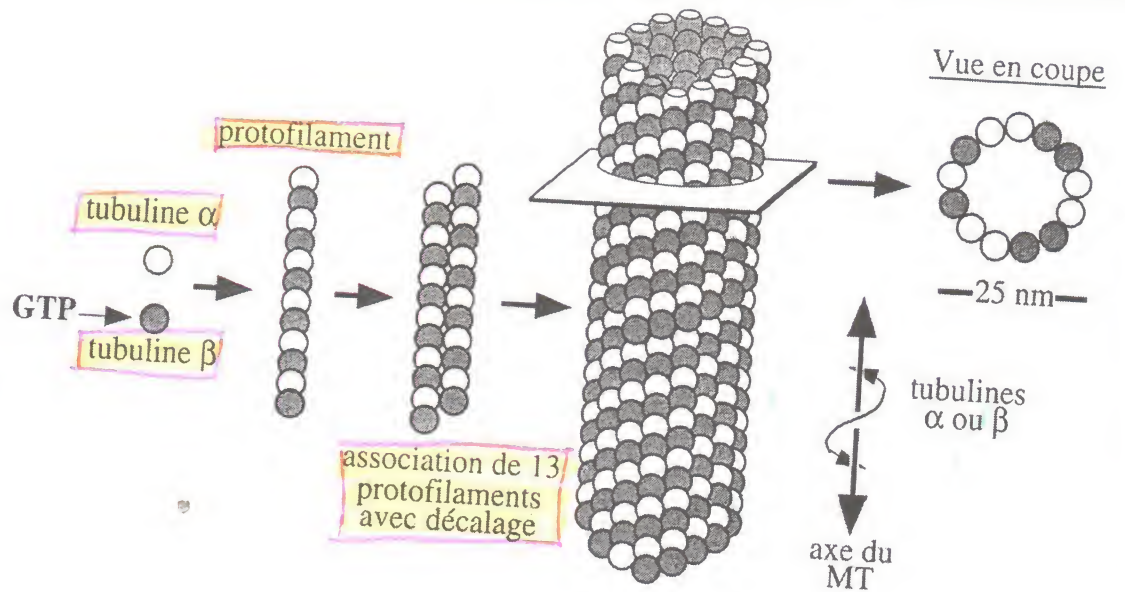


Schéma 1 : Architecture moléculaire d'un microtubule.

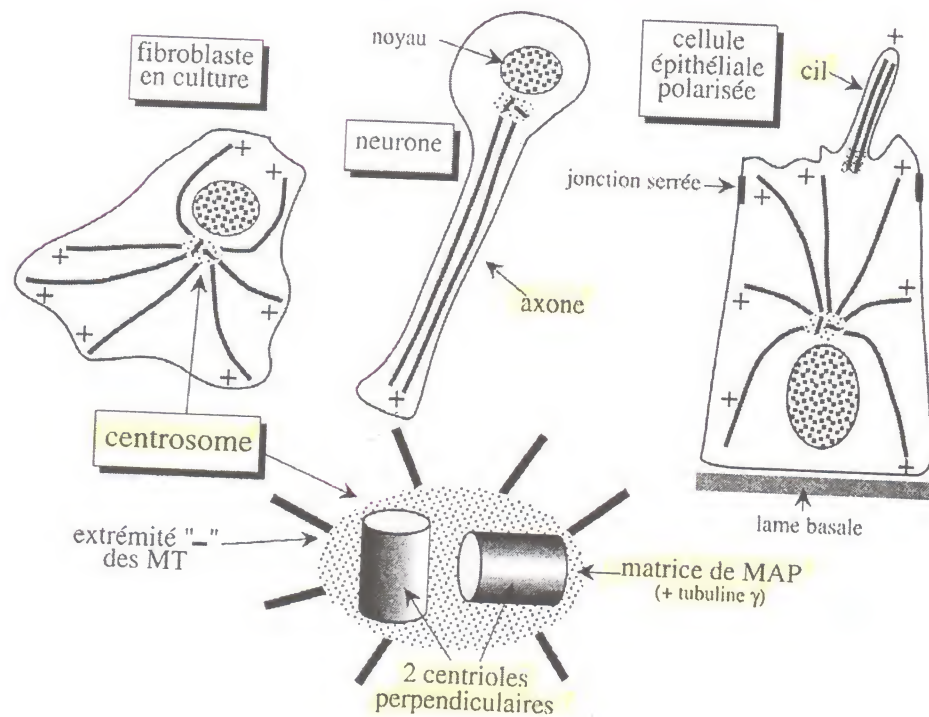


Schéma 2 : Orientation des microtubules dans différents types cellulaires.

1.3 Propriétés

Les microtubules constituent un réseau dynamique et polarisé qui irradie du centrosome vers la périphérie des cellules (Schéma 2).

Les microtubules se polymérisent (s'allongent) et se dépolymérisent (se raccourcissent) continuellement (Schéma 3 couleur). Chaque microtubule possède une extrémité (+) à polymérisation rapide et dépolymérisation lente, vers la périphérie cellulaire et une extrémité (-) à polymérisation lente et dépolymérisation rapide, vers le centrosome.

Certaines drogues perturbent la dynamique des microtubules. Ainsi la Colchicine et la Vinblastine inhibent la polymérisation en s'associant aux dimères de tubuline, il s'en suit le raccourcissement progressif des microtubules. A l'inverse le Taxol stabilise les microtubules polymérisés (Schéma 4 couleur).

En thérapeutique humaine, ces molécules sont utilisées comme médicaments anticancéreux. En effet, la désorganisation des microtubules empêche la migration des chromosomes en métaphase, ce qui empêche la multiplication des cellules cancéreuses.

1.4 Protéines associées

Il existe des protéines associées aux microtubules, ce sont les MAP (Microtubule Associated Protein). On distingue :

Les MAP structurales stabilisent le réseau des microtubules en reliant les microtubules parallèles entre eux, ex : MAP₂.

Dans les axones neuronaux, il existe une autre MAP : la protéine Tau (Schéma 5) dont l'altération est à l'origine de la maladie d'Alzheimer.

Les MAP motrices assurent les mouvements des organites et des vésicules le long des microtubules ; elles présentent trois domaines : un domaine de tête qui se fixe au microtubule, un segment intermédiaire et un domaine (queue) qui se fixe à la membrane des vésicules ou des organites à transporter.

Ces protéines assurent un transport orienté : les **Kinésines** transportent vers l'extrémité (+) et les **Dynéines** vers l'extrémité (-) (Schéma 6).

2 LES MICROTUBULES STABLES

Dans les cellules eucaryotes animales, les microtubules s'organisent en structures complexes et stables : les centrioles et leurs dérivés à savoir les cils et les flagelles.

2.1 Les centrioles

Chaque cellule eucaryote renferme, près du noyau, deux centrioles disposés perpendiculairement l'un à l'autre et entourés d'une matrice protéique (matrice de MAPs). Cet ensemble est appelé centrosome ou centre organisateur des microtubules car il forme aussi bien les microtubules des cils et des flagelles (dérivés centriolaires) que les microtubules labiles.

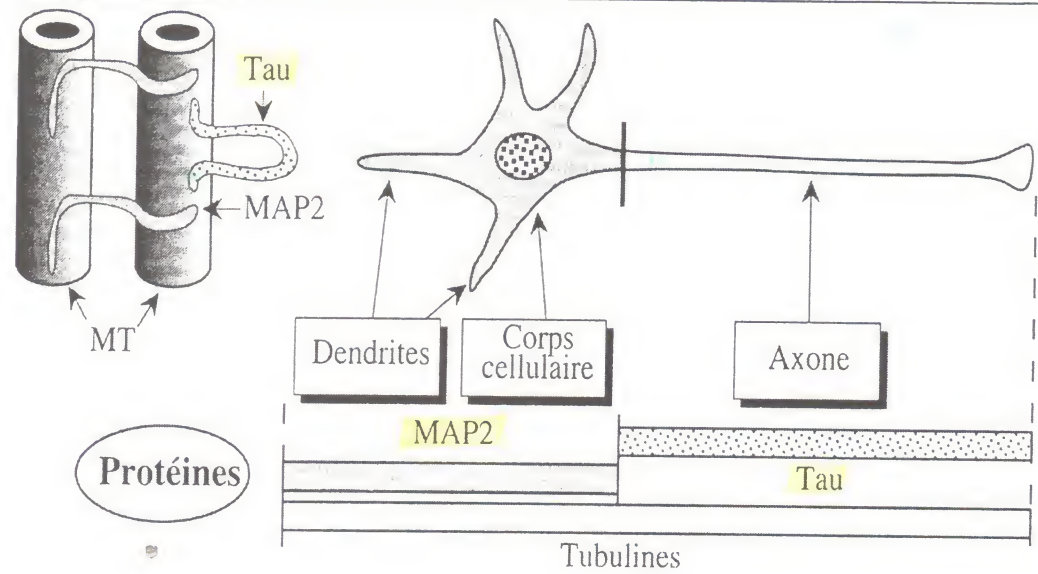


Schéma 5 : Les MAP structurales.

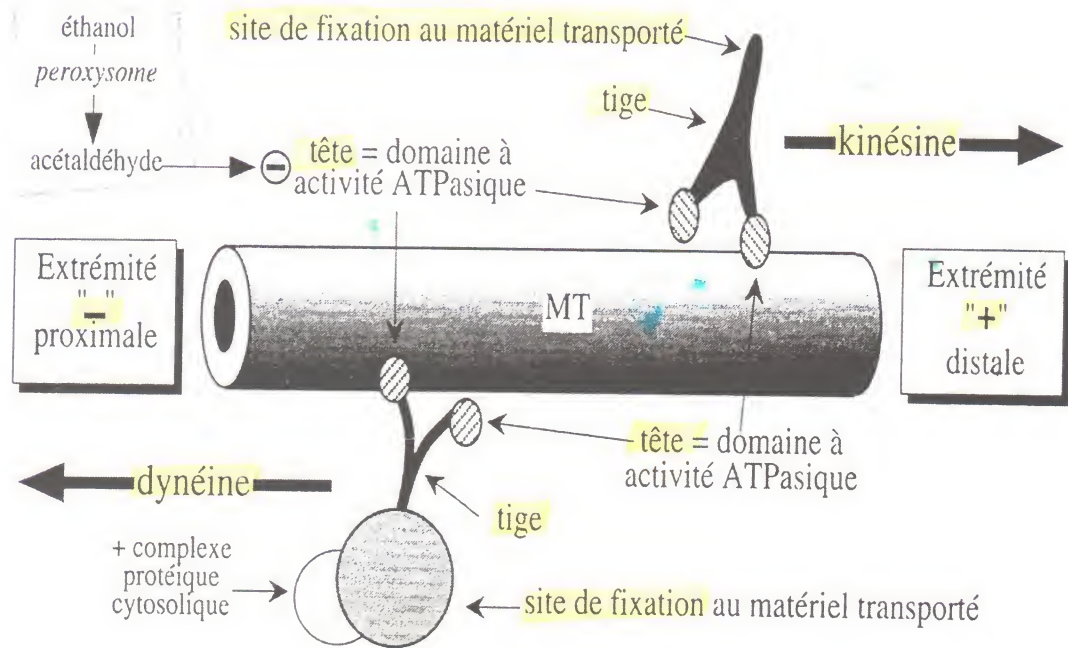


Schéma 6 : Les MAP motrices.

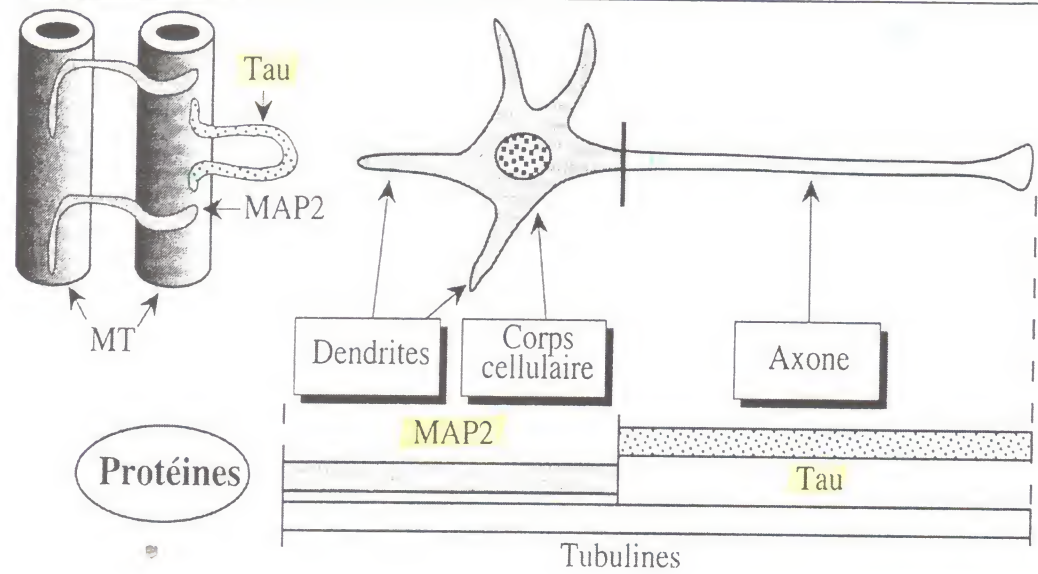


Schéma 5 : Les MAP structurales.

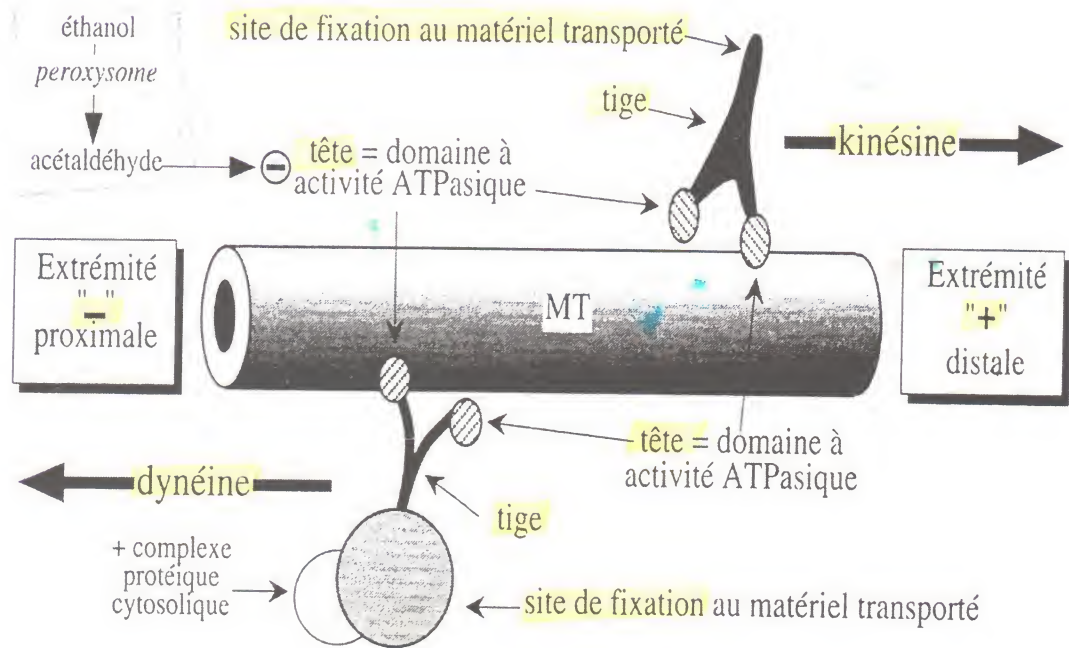


Schéma 6 : Les MAP motrices.

2.1.1 Ultrastructure et protéines associées

Par la technique de coloration positive, chaque centriole apparaît comme un cylindre creux mesurant en moyenne $0.5\ \mu\text{m}$ de long et $0.25\ \mu\text{m}$ de diamètre. Sa paroi dense aux électrons, apparaît formé de 9 triplets de microtubules disposés de manière inclinée par rapport à l'axe du centriole. Ces triplets sont désignés de l'intérieur vers l'extérieur par les lettres A, B, C (*Planche I*).

Le microtubule A, à section circulaire, est complet (13 protofilaments) alors que les microtubules B et C sont incomplets (10 protofilaments). Les triplets sont réunis par des liens denses de nexine tendus entre les microtubules A et C de triplets voisins. Le centriole présente à une de ces extrémités une structure complexe dense aux électrons occupant son centre: c'est le dispositif en rayons de roue de charrette.

2.1.2 Biogenèse

Le centriole se développe le plus souvent à partir d'un centriole préexistant; celui-ci s'allonge par nucléation des microtubules. Chaque microtubule sert de matrice pour l'assemblage des triplets.

2.1.3 Rôles

Dans les cellules en division, par sa duplication, le centrosome permet la genèse d'un nouveau centriole. Ceci induit la mise en place du fuseau mitotique dès la fin de la phase G_2 du cycle cellulaire (*Schéma 7*).

Dans les cellules différenciées le centrosome permet la production des microtubules libres.

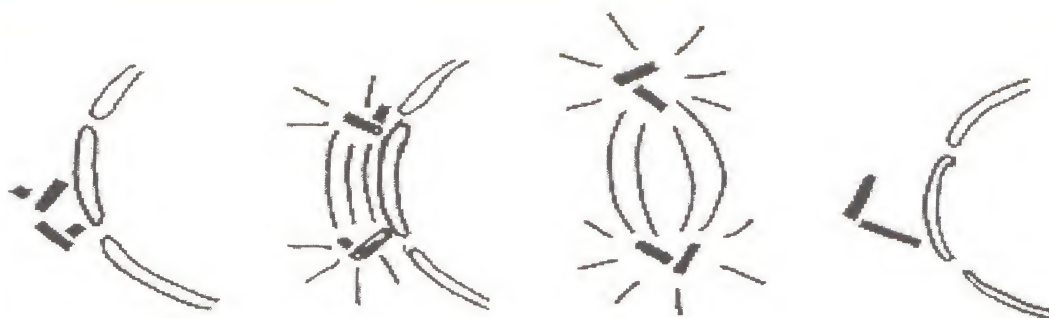
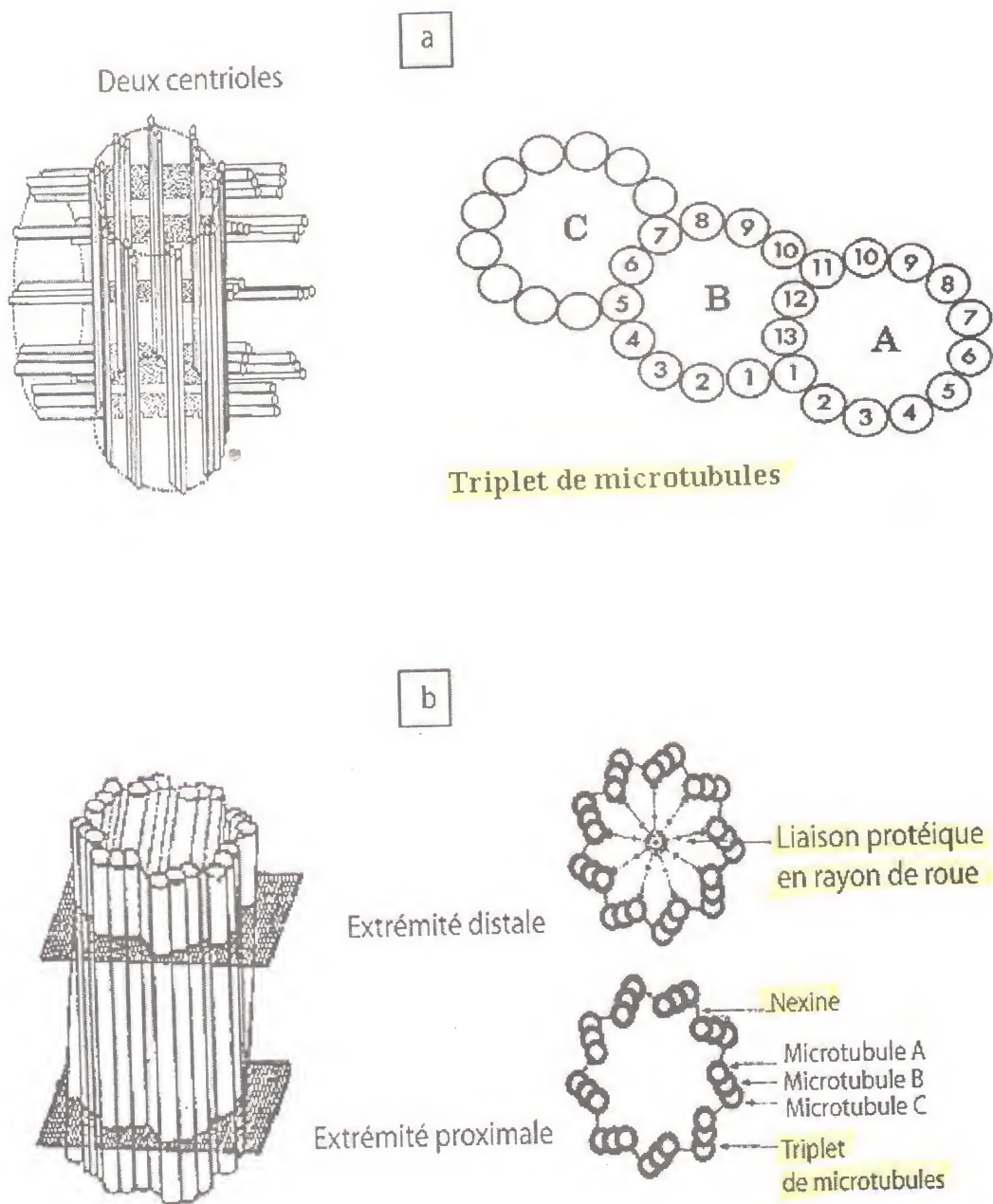


Schéma 7 : Duplication des centrioles.

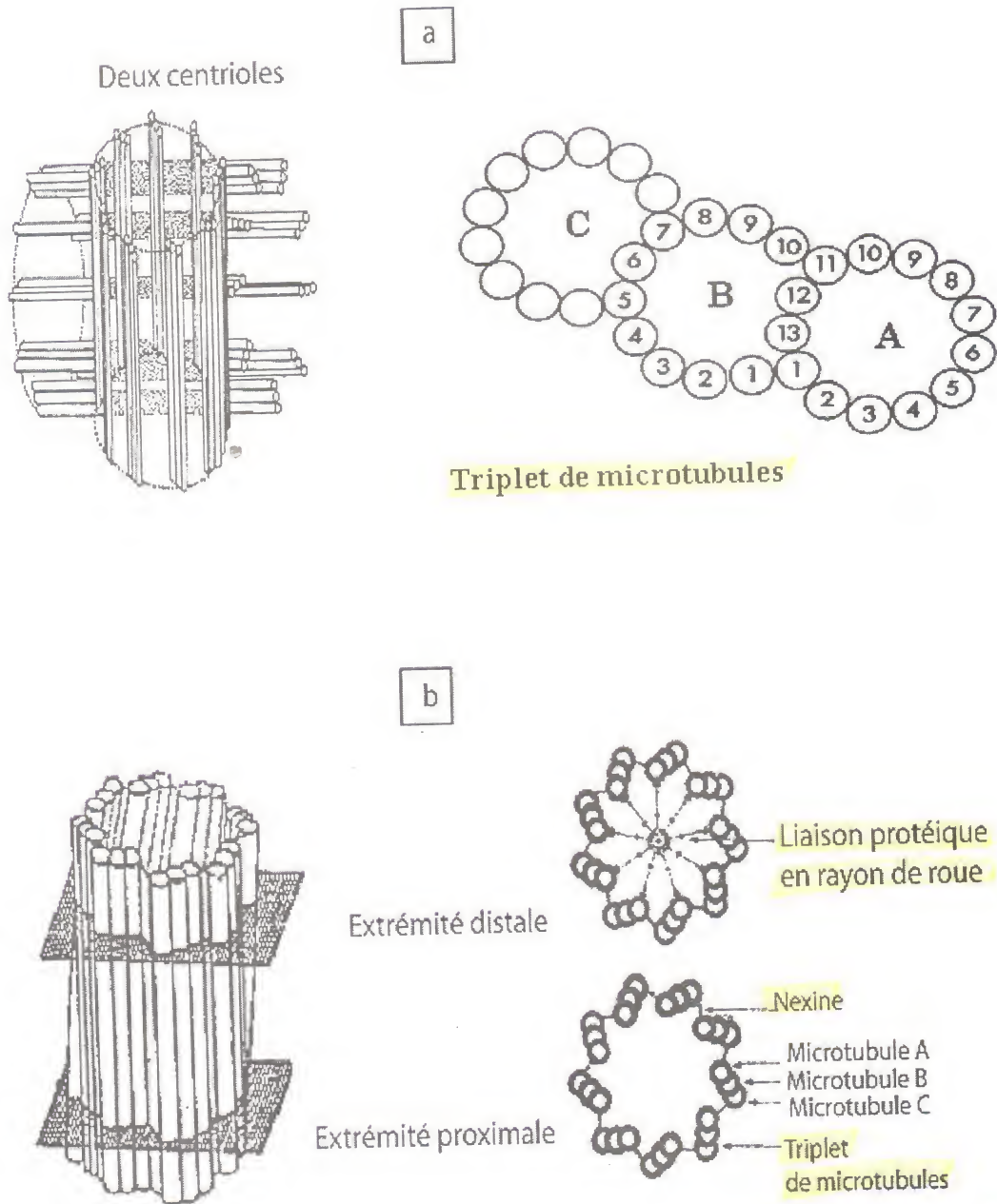
2.2 Les cils et les flagelles

Les cils sont des différenciations apicales portées par certaines cellules épithéliales chargées de déplacer leurs produits de sécrétion. Cas des cellules ciliées de l'épithélium bronchique et des cellules des trompes de Fallope.

Les flagelles sont des différenciations uniques ou multiples capables de mouvoir la cellule qui en est porteuse; comme le flagelle du spermatozoïde.



Planchie I : Représentation schématique du diplosome (a) et ultrastructure du centriole (b).



Planchie I : Représentation schématique du diplosome (a) et ultrastructure du centriole (b).

Chapitre V

Il n'existe pas de différence ultrastructurale entre un cil et un flagelle ; seule la longueur diffère : 5 à 10 μm pour un cil et 100 μm ou plus pour un flagelle.

Il ne faut pas confondre les cils des cellules ciliées avec les stéréocils qui sont des microvillosités et avec les cils des yeux qui sont des phanères constitués de filaments intermédiaires de kératine.

22.1 Ultrastructure et protéines associées

Au microscope électronique à transmission, après coloration positive, le cil présente plusieurs portions (*Planche II couleur*) :

La tige ciliaire ou axonème est recouverte par la membrane plasmique apicale. Elle présente une organisation de ses microtubules en 9 doublets périphériques de microtubules A et B, microtubule C disparaît, et 1 doublet de microtubules centraux (9+2) assurant la solidité de la structure. Le microtubule A le plus interne est complet (13 protofilaments) alors que le microtubule B est incomplet (9 protofilaments). Dans la tige ciliaire plusieurs types de MAP relient entre eux les 9 doublets de microtubules périphériques et les deux microtubules centraux :

- un manchon central de MAP entourant les deux microtubules centraux
- des MAP mal connues constituant les fibres ou lames rayonnantes à disposition radiaire entre le microtubule A et le manchon central
- la nexine reliant le microtubule B au microtubule A voisin
- la dynéine (MAP motrice ATPasique spécifique du cil) fixé sur chaque microtubule A et constituée de 2 bras (externe et interne).

Une zone de transition reliant la tige au corpuscule basal. Celui-ci se caractérise par l'absence du doublet central de microtubule et par la présence d'une plaque basale qui joue le rôle de centre organisateur de ces microtubules centraux.

Un corpuscule basal ou cinétosome présentant une structure comparable au centriole. Dans la cellule ciliée les corpuscules basaux ont une disposition rectiligne dessinant une zone dense sous membranaire. Ils permettent la naissance ou la régénération des cils.

Une racine ciliaire, inconstante, surtout présente dans les cellules possédant de nombreux cils. A localisation cytoplasmique, elle est formée de filaments intermédiaires parallèles responsables de son aspect strié.

22.2 Rôles

La dynéine ciliaire est responsable des mouvements des cils et des flagelles (voir la biomotilité) permettant ainsi le déplacement des cellules mobiles (flagelles) ou du milieu péricellulaire (cils).

La racine ciliaire serait responsable de la synchronisation des mouvements de l'ensemble des cils d'une cellule.



2.2.3 Pathologie

Chez l'homme, une mutation se traduisant par l'absence des bras de dynéine induit l'immobilité des cils des cellules ciliées et des flagelles des spermatozoïdes: c'est le syndrome de Kartagener. Les malades atteints de ce syndrome présentent une stérilité, des bronchites chroniques et des sinusites.

B. LES MICROFILAMENTS FINS D'ACTINE

1. ULTRASTRUCTURE ET ARCHITECTURE MOLECULAIRE

Sur coupes minces après coloration positive, les microfilaments fins apparaissent comme des filaments rectilignes mesurant entre 6 et 8 nm de diamètre. La coloration négative montre qu'ils sont formés de l'alignement d'actine G en une hélice monocaténaire.

L'actine G est la protéine cellulaire la plus abondante, c'est un monomère de forme bivalette délimitant une crevasse au centre de laquelle se fixe l'ATP ou l'ADP.

Chaque monomère d'actine G possède des sites de fixation à d'autres monomères d'actine G d'où sa capacité à former un trimère. Celui-ci sert comme site de nucléation pour la polymérisation en actine F (*Planche III*).

2. PROPRIETES

Les microfilaments d'actine sont polarisés ; ils portent une extrémité positive (+) au niveau de laquelle se fait la polymérisation rapide et une extrémité négative (-) à polymérisation lente (*Schéma 8 couleur*).

L'alternance des phases de polymérisation et de dépolymérisation de l'actine est nécessaire à l'activité des cellules non musculaires ; elle dépend du pool d'actine G, de l'ATP-Mg et de la force ionique du milieu. En revanche, ces phénomènes ne se produisent pas dans les cellules musculaires.

Le renouvellement des microfilaments d'actine permet de modéliser le tapis roulant (*Schéma 9 couleur*).

Certaines drogues perturbent ces phénomènes :

- la cytochalasine, poison extrait de champignons microscopiques, se fixe sur l'extrémité (+) des microfilaments et empêche la fixation de nouvelles molécules d'actine G inhibant ainsi la polymérisation.
- la phalloïdine, poison extrait des champignons Amanites, inhibe la dépolymérisation en se fixant sur les cotés des filaments d'actine F et empêche ainsi la libération des monomères (*Schéma 10 couleur*).

3. VARIETES ET DISTRIBUTION

Trois variétés d'actine G sont connues :

- l'actine α , caractéristique des microfilaments qui composent les disques clairs des myofibrilles dans les cellules musculaires striées et ceux des cellules musculaires lisses.

2.2.3 Pathologie

Chez l'homme, une mutation se traduisant par l'absence des bras de dynéine induit l'immobilité des cils des cellules ciliées et des flagelles des spermatozoïdes: c'est le syndrome de Kartagener. Les malades atteints de ce syndrome présentent une stérilité, des bronchites chroniques et des sinusites.

B. LES MICROFILAMENTS FINS D'ACTINE

1. ULTRASTRUCTURE ET ARCHITECTURE MOLECULAIRE

Sur coupes minces après coloration positive, les microfilaments fins apparaissent comme des filaments rectilignes mesurant entre 6 et 8 nm de diamètre. La coloration négative montre qu'ils sont formés de l'alignement d'actine G en une hélice monocaténaire.

L'actine G est la protéine cellulaire la plus abondante, c'est un monomère de forme bivalet délimitant une crevasse au centre de laquelle se fixe l'ATP ou l'ADP.

Chaque monomère d'actine G possède des sites de fixation à d'autres monomères d'actine G d'où sa capacité à former un trimère. Celui-ci sert comme site de nucléation pour la polymérisation en actine F (*Planche III*).

2. PROPRIETES

Les microfilaments d'actine sont polarisés ; ils portent une extrémité positive (+) au niveau de laquelle se fait la polymérisation rapide et une extrémité négative (-) à polymérisation lente (*Schéma 8 couleur*).

L'alternance des phases de polymérisation et de dépolymérisation de l'actine est nécessaire à l'activité des cellules non musculaires ; elle dépend du pool d'actine G, de l'ATP-Mg et de la force ionique du milieu. En revanche, ces phénomènes ne se produisent pas dans les cellules musculaires.

Le renouvellement des microfilaments d'actine permet de modéliser le tapis roulant (*Schéma 9 couleur*).

Certaines drogues perturbent ces phénomènes :

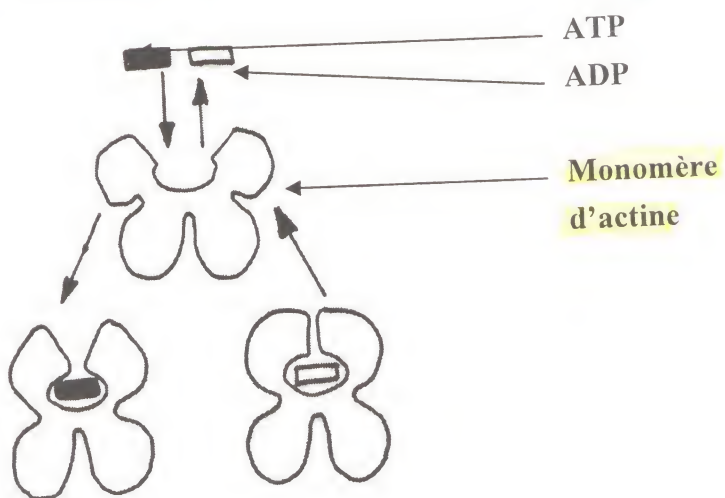
- **la cytochalasine**, poison extrait de champignons microscopiques, se fixe sur l'extrémité (+) des microfilaments et empêche la fixation de nouvelles molécules d'actine G inhibant ainsi la polymérisation.
- **la phalloïdine**, poison extrait des champignons Amanites, inhibe la dépolymérisation en se fixant sur les cotés des filaments d'actine F et empêche ainsi la libération des monomères (*Schéma 10 couleur*).

3. VARIETES ET DISTRIBUTION

Trois variétés d'actine G sont connues :

- **l'actine α** , caractéristique des microfilaments qui composent les disques clairs des myofibrilles dans les cellules musculaires striés et ceux des cellules musculaires lisses.

a



b

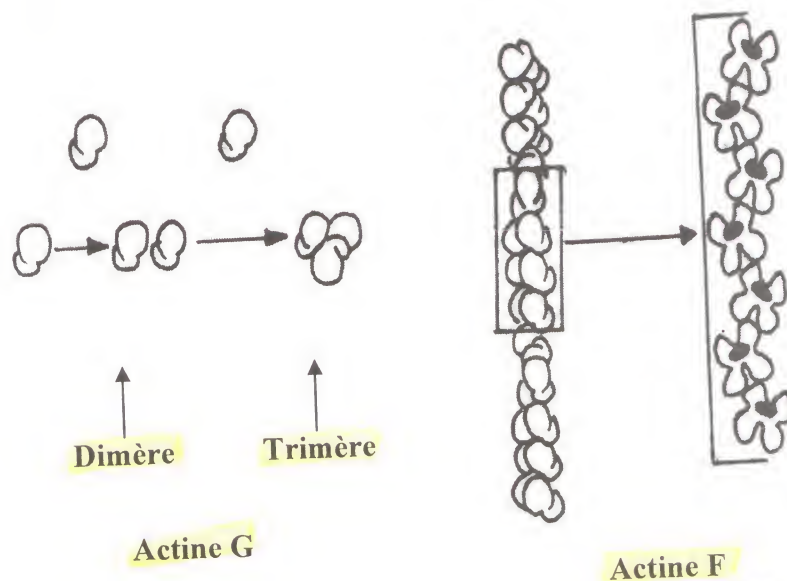
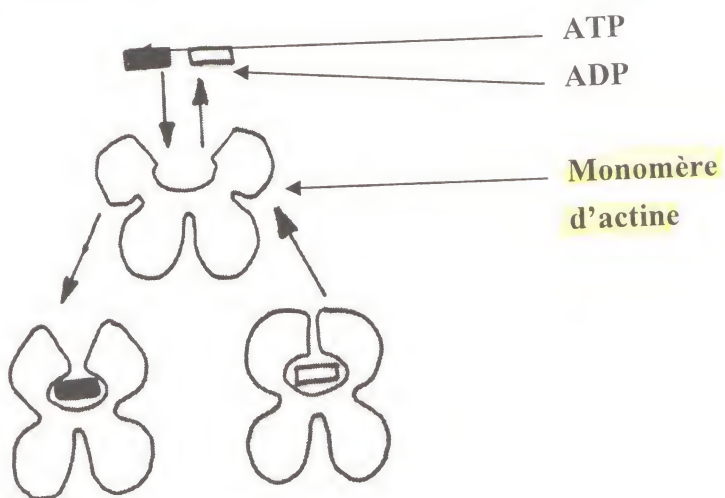


Planche III : Monomère d'actine G (a) et polymérisation de l'actine G en actine F (b).

a



b

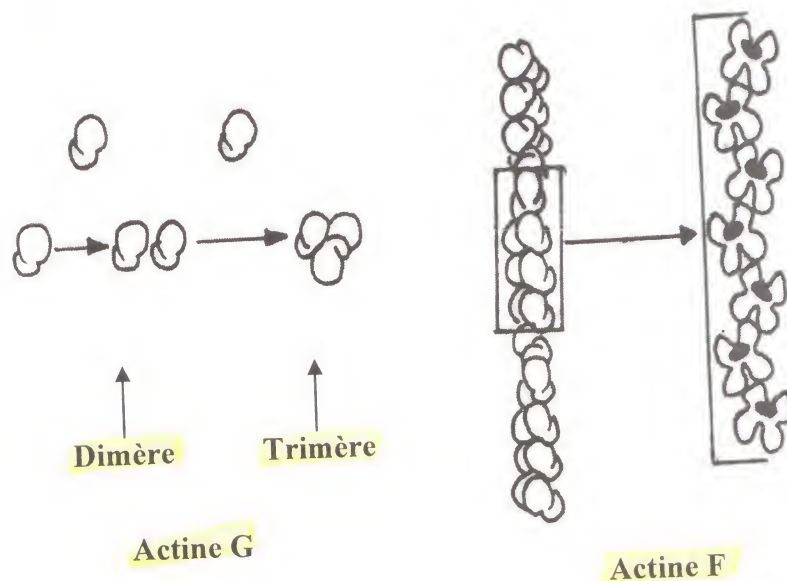


Planche III : Monomère d'actine G (a) et polymérisation de l'actine G en actine F (b).

- **L'actine β et l'actine γ** forment les **microfilaments fins** des autres types cellulaires. Ces filaments sont particulièrement **concentrés dans la région périnucléaire** où ils sont disposés **en corbeille** et sous la membrane plasmique où elles forment avec, les **protéines membranaires périphériques internes, le cortex cellulaire**.

Ces fibres peuvent avoir une **disposition en réseau** (fibroblastes), en **faisceaux parallèles à la membrane** (desmosomes de ceinture des cellules épithéliales) ou encore en **faisceaux serrés** (microvillosités des entérocytes : **Planche V** ou anneau contractile : **Planche X couleur**).

4. PROTEINES ASSOCIEES

De nombreuses protéines cytosoliques peuvent se lier à l'actine G et **contrôler sa polymérisation** en actine F ou encore **contrôler la croissance des filaments**, leur organisation et leur **ancrage à la membrane plasmique**.

Ces protéines sont représentées dans le **Tableau 1** et la **Planche V** pour les cellules non musculaires et dans le **Tableau 2** et la **Planche VI en couleur** dans les cellules musculaires.

Fonctions	Protéines	Effet sur les filaments d'actine
Formation des filaments épais entre les microfilaments d'actine du sarcomère	Myosine 2	Interagit avec l'actine, grâce à son activité ATPasique (têtes), pour assurer le mouvement
Pontage des faisceaux d'actine dans le sarcomère	α actinine	Ancrer les filaments d'actine aux stries Z
Complexe contrôlant la contraction musculaire par le Ca^{++}	Tropomyosine	Occupe les sillons de l'hélice d'actine et masque les sites de fixation de la myosine
	Troponine	Masque les sites d'interaction actine-myosine et empêche la contraction en absence de Ca^{++} .

Tableau 2 : Les protéines associées à l'actine dans les cellules musculaires.

C. LES MICROFILAMENTS EPAIS DE MYOSINE

Ce sont des filaments épais de 10 à 15 nm de diamètre. Ils sont formés d'une protéine contractile en forme de bâtonnet, la Myosine.

Il existe deux variétés de myosine (Schéma 11) :

- la myosine I monomérique, est formée d'une tête globulaire qui porte un site de phosphorylation et un site de fixation à l'actine et, d'une queue courte se fixant à la membrane plasmique ou à celle des vésicules à transporter (Planche V).

- la myosine II caractérise les cellules musculaires. Elle est formée de 2 têtes globulaires à activité ATPasique réagissant avec l'actine et, d'une queue longue qui forme les disques A des myofibrilles (Planche VI couleur).

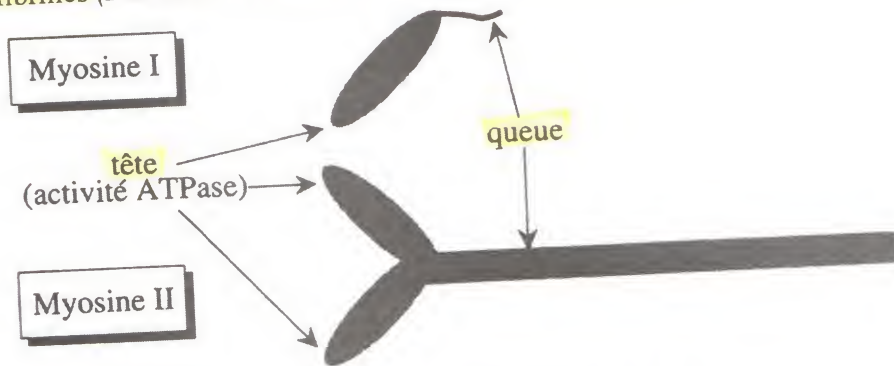


Schéma 11 : Les myosines I et II.

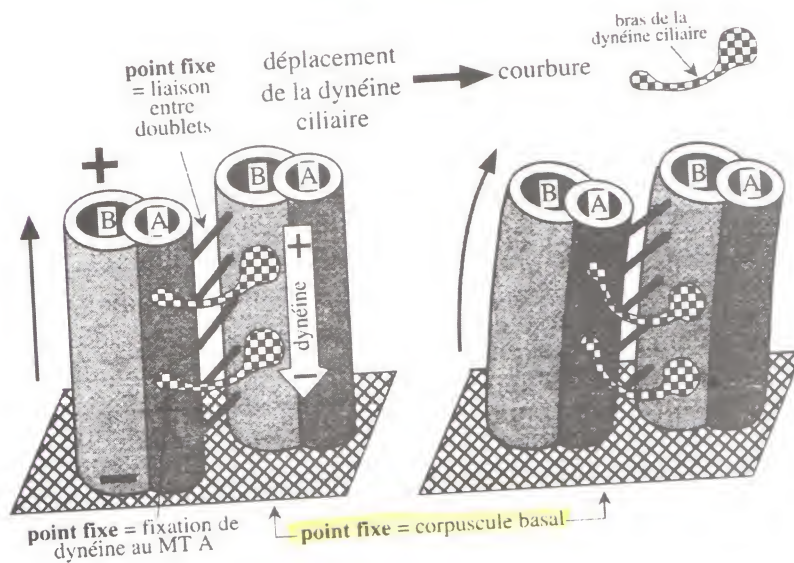


Schéma 13 : Cinétique du battement du flagelle ou du cil.

Fonction		Protéines	Effet sur l'actine
Contrôle de la polymérisation		Profiline	Se fixe à l'actine G et stimule l'échange de l'ADP par l'ATP favorisant la polymérisation.
Organisation des microfilaments	Faisceaux larges	α-actinine	Se fixe aux microfilaments d'actine et forme des faisceaux contractiles larges.
	Faisceaux serrés	Fimbrine Villine	Se fixe aux microfilaments d'actine et forme des faisceaux serrés occupant l'axe des microvillosités.
	En réseau	Filamine	Se fixe à des microfilaments croisés et les stabilisent en réseau (réticulation), favorisant ainsi l'état gel du hyaloplasme.
Fragmentations des microfilaments		Gelsoline	Fragmentation des microfilaments favorisant l'état sol. Fluidification locale du cortex cellulaire lors de l'exocytose.
Mouvement		Myosine I	Formation des filaments d'actomyosine lors de l'exocytose. Formation des fibres de stress dans les déplacements cellulaires.
Ancrage à la membrane plasmique		Spectrine	S'associe aux microfilaments d'actine par une extrémité et à des protéines de la membrane plasmique par l'autre. Contrôle de la forme biconcave des globules rouges.

Tableau 1 : Les protéines associées à l'actine dans les cellules non musculaires.

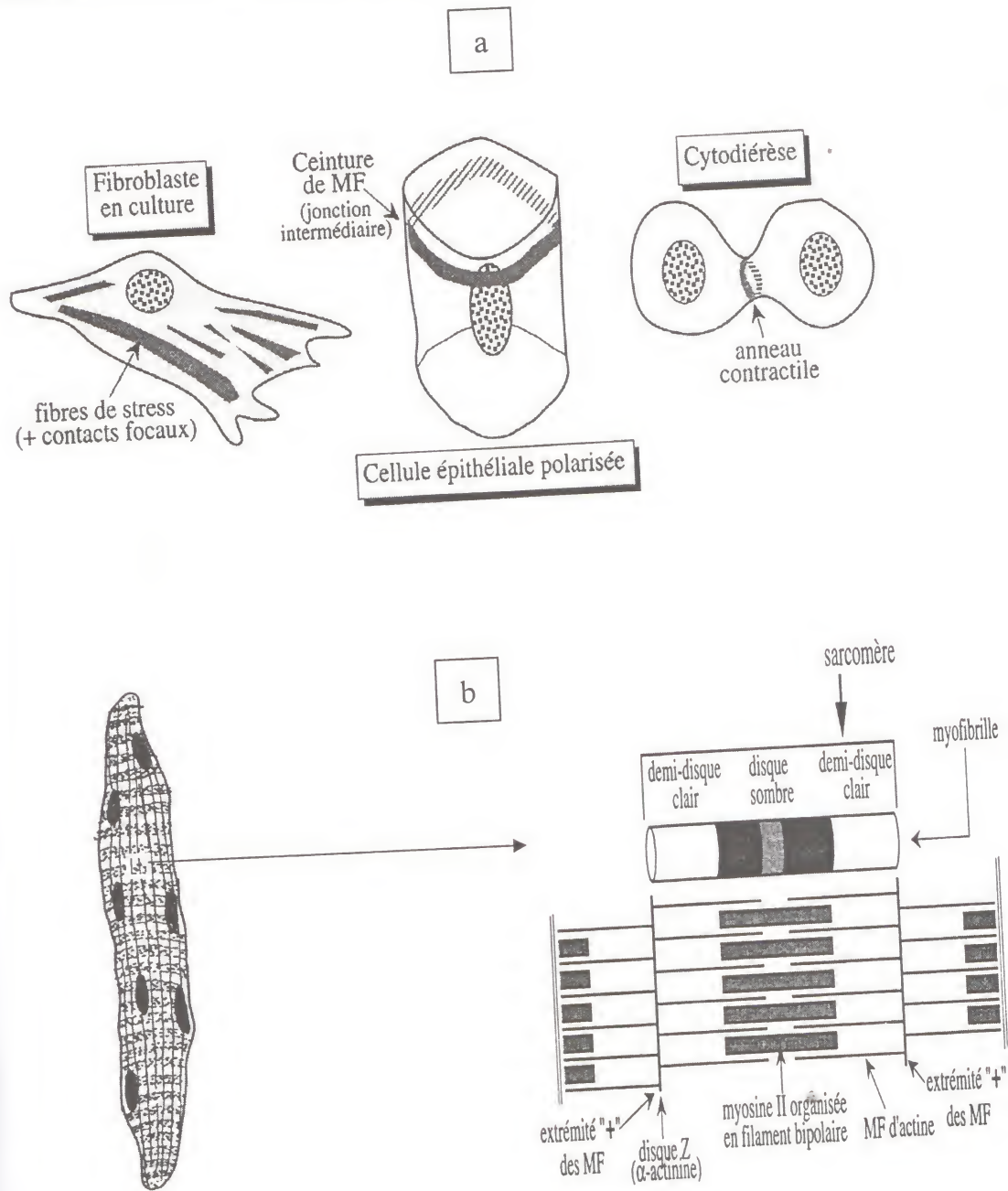


Planche IV : Distribution des microfilaments d'actine dans les cellules non musculaires (a) et dans les cellules musculaires (b).

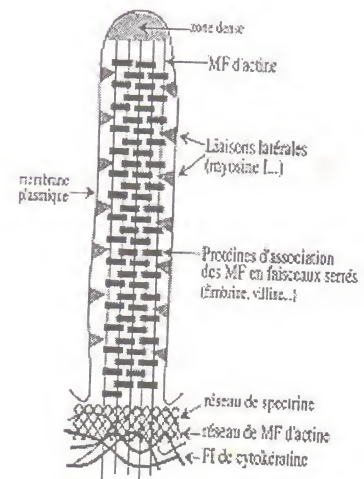
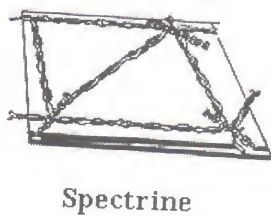
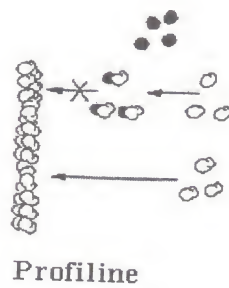
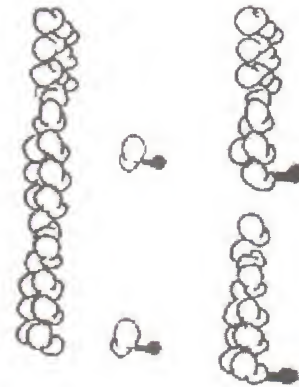
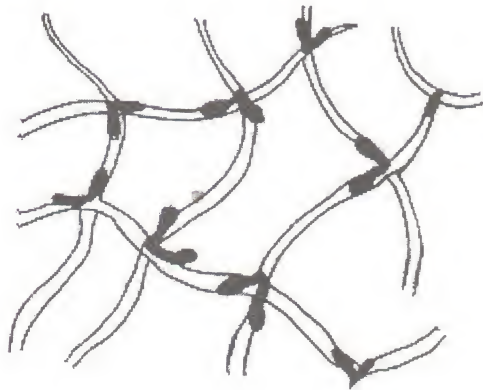
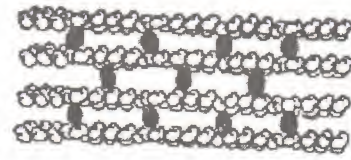
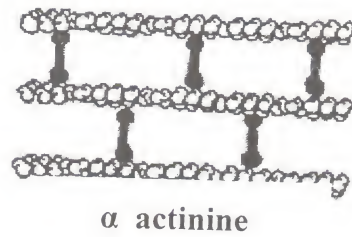


Planche V : Protéines associées à l'actine dans les cellules non musculaires.

D. LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES

1. ULTRASTRUCTURE ET PROPRIETES

Les filaments intermédiaires mesurent 10nm de diamètre, diamètre moyen entre celui des microfilaments d'actine et celui des microfilaments de myosine, d'où leur appellation. Ils sont formés de dimères de protéines fibreuses en forme d'hélices torsadées. Les dimères s'associent de manière antiparallèle pour former des tétramères. Ceux-ci se mettent bout à bout et constituent un protofilament. 8 protofilaments s'associent et forment un filament intermédiaire dont la section est composée de 32 monomères (Planche VII). Cette structure en câble fait des filaments intermédiaires, des éléments stables, résistants et élastiques.

Ils ne participent pas à la motilité cellulaire mais interviennent dans le maintien de la morphologie cellulaire, dans la résistance aux stress mécanique et dans le maintien d'une cohésion entre les cellules.

2. CLASSIFICATION

Les protéines qui composent les filaments intermédiaires diffèrent d'un type cellulaire à un autre.

Ces protéines sont classées en quatre familles spécifiques chacune, d'un type de tissu tel que les cytokératines, les neurofilaments, les vimentines, les desmine et la GFAP (glial fibrillary acid protein) et en une famille commune à toutes les cellules nucléées les lamines A, B et C (Tableau 3).

Protéine de filaments intermédiaires	Type cellulaire
Neurofilamines	Neurones (dendrites et axones où ils s'y associent aux microtubules)
Cytokératines (tonofilaments)	Cellules épithéliales (desmosomes et hémidesmosomes) Dérivés épidermiques (ongles, cheveux, poils...)
Desmine	Muscle lisse et strié (relie les myofilaments entre eux et à la membrane plasmique).
Vimentine	Dans les tissus qui dérivent du mésenchyme (muscles lisses, muscle cardiaque, vaisseaux sanguins), fibroblastes, cellules endothéliales.
Lamines (A, B, C)	Forment le réseau périnucléaire (lamina).

Tableau 3 : Distribution des différentes familles de protéines formant les filaments intermédiaires.

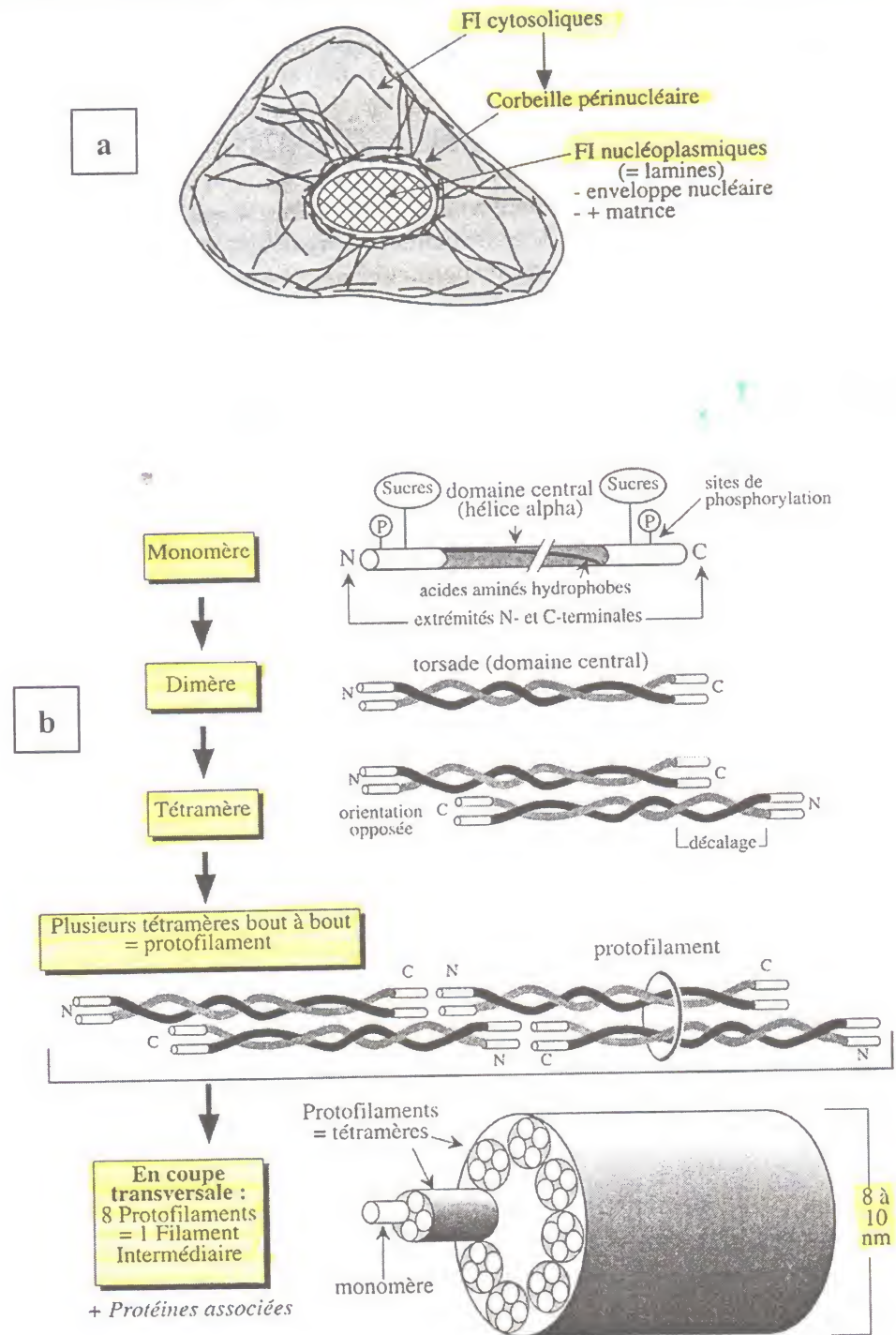


Planche VII : Distribution cellulaire (a) et ultrastructure des filaments intermédiaires (b).

E : FONCTIONS LA BIOMOTILITE

CLASSIFICATION		MECANISME MOLECULAIRE
Flux axoplasmiques	antérograde	<ul style="list-style-type: none"> - fixation de la membrane d'organites ou de vésicules sur les microtubules à leur extrémité (-) dans le corps cellulaire par les kinésines, - déplacement de la vésicule vers l'extrémité (+) de la terminaison nerveuse (<i>Schéma 12 couleur</i>).
	rétrograde	<ul style="list-style-type: none"> - fixation de la membrane d'organites ou de vésicules sur les microtubules à leur extrémité (+) dans la terminaison nerveuse par les dynéines, - déplacement des vésicules vers l'extrémité (-) du corps cellulaire (<i>Schéma 12 couleur</i>).
	vésicules d'endocytose et phagosomes	<ul style="list-style-type: none"> - fusion membranaire plasmique et vésiculaire, - endocytose, - fixation de la membrane vésiculaire sur l'extrémité (+) des microtubules par les dynéines, - déplacement vers l'extrémité (-), - concentration du matériel vésiculaire dans le compartiment endosomal (<i>Planche VIII</i>).
Transports vésiculaires		<ul style="list-style-type: none"> - fixation de la membrane vésiculaire sur l'extrémité (-) des microtubules par les kinésines, - déplacement vers l'extrémité (+), - fixation des vésicules sur l'extrémité (-) des microfilaments d'actine par la queue de myosine I, - déplacement vers l'extrémité (+), - signal d'exocytose et élévation de la concentration en Ca^{++} intracellulaire, - déplacement vers l'extrémité (-), - fusion membranaire et exocytose (<i>Planche VIII</i>).
Migration des chromosomes		<ul style="list-style-type: none"> - migration des chromosomes vers la plaque équatoriale du fuseau métaphasique, - déplacement des chromatides vers les pôles du fuseau à l'anaphase suite aux allongements des microtubules polaires et raccourcissement des microtubules kinétochoriens (<i>Planche IX couleur</i>).
Cytodivision		<ul style="list-style-type: none"> - attachement des têtes de myosine II aux microfilaments d'actine, - glissement des microfilaments les uns par rapport aux autres, - étranglement de l'anneau contractile et séparation des deux cellules filles (<i>Planche X couleur</i>).

Mouvements intracellulaires

	Contraction des cellules musculaires	<ul style="list-style-type: none"> - glissement des microfilaments d'actine sur les têtes de myosine II, - raccourcissement des sarcomères (<i>Planche XI</i>).
	Mouvements des cellules libres Mouvements amiboïdes (leucocytes, fibroblastes, cellules cancéreuses, cellules en culture, protozoaires...)	<ul style="list-style-type: none"> - adhésion au substrat par interaction entre intégrines membranaires et microfilaments d'actine intracellulaires (points de contacts focaux) (<i>Planche XII couleur</i>), - rétraction de la région postérieure par dépolymérisation locale des microfilaments d'actine du cortex cellulaire et endocytose des vésicules membranaires à l'arrière de la cellule : diminution de la surface membranaire, - transport des vésicules vers le centre cellulaire par les microtubules et dynéines, - exocytose des vésicules membranaires à l'avant de la cellule grâce aux microtubules et kinésines : augmentation de la surface membranaire par désagrégation locale des microfilaments corticaux et intervention de la myosine II, - polymérisation des microfilaments d'actine à l'extrémité (+) poussant la membrane et donc la cellule dans la direction du mouvement.
	Mouvements flagellés (spermatozoïdes)	<ul style="list-style-type: none"> - courbure des têtes de dynéines après hydrolyse d'ATP, - glissement des microtubules A et B des doublets voisins l'un par rapport à l'autre (<i>Schéma 13</i>).
Brassage du milieu extracellulaire	Battement des cils (cas des cellules ciliées des épithéliums bronchiques)	<ul style="list-style-type: none"> - battement synchrone des cils (grâce à la racine ciliaire) (<i>Schéma 13</i>), - transport du liquide bronchique de la profondeur des bronches vers les trachées, - élimination des particules inhalées.

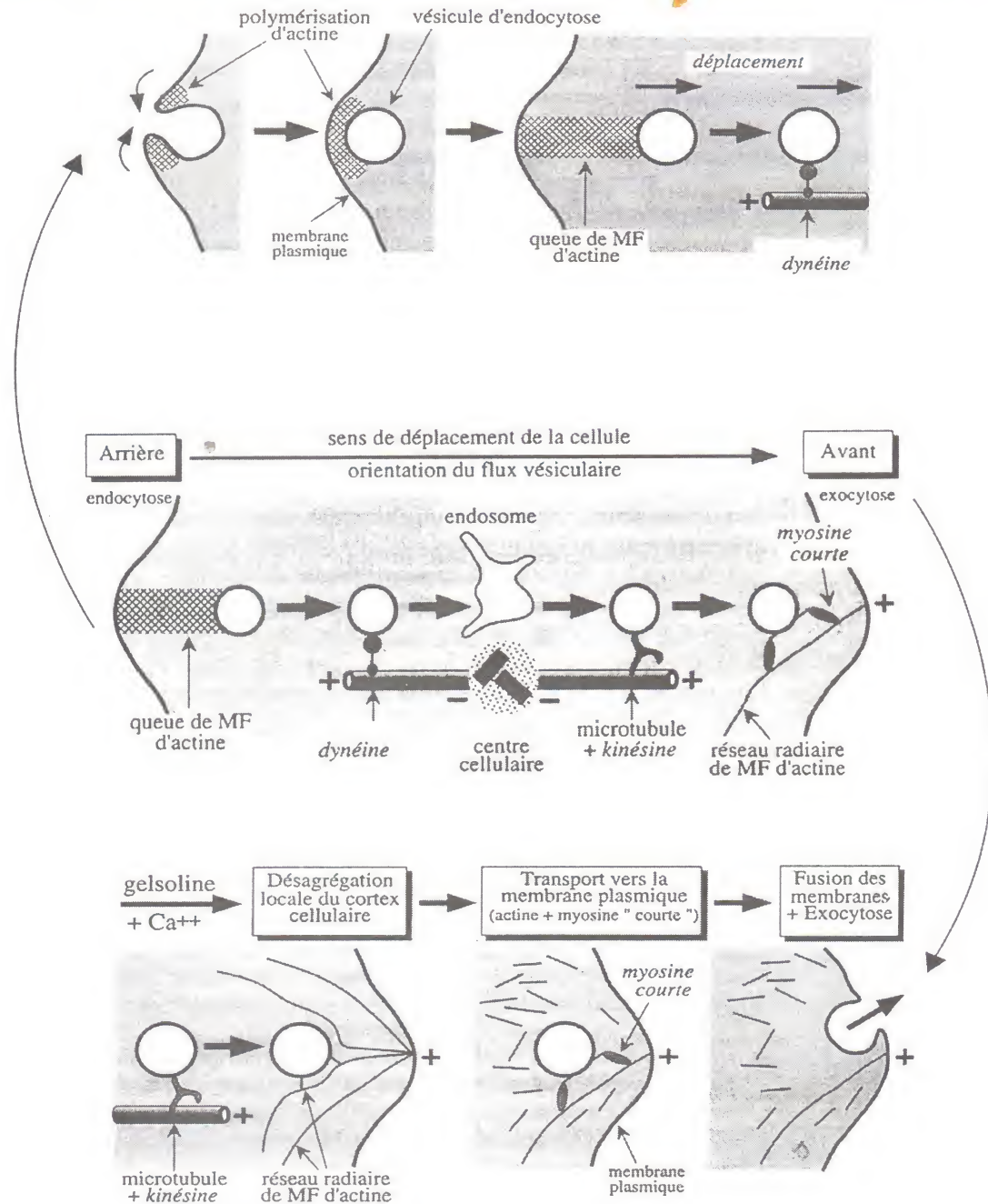
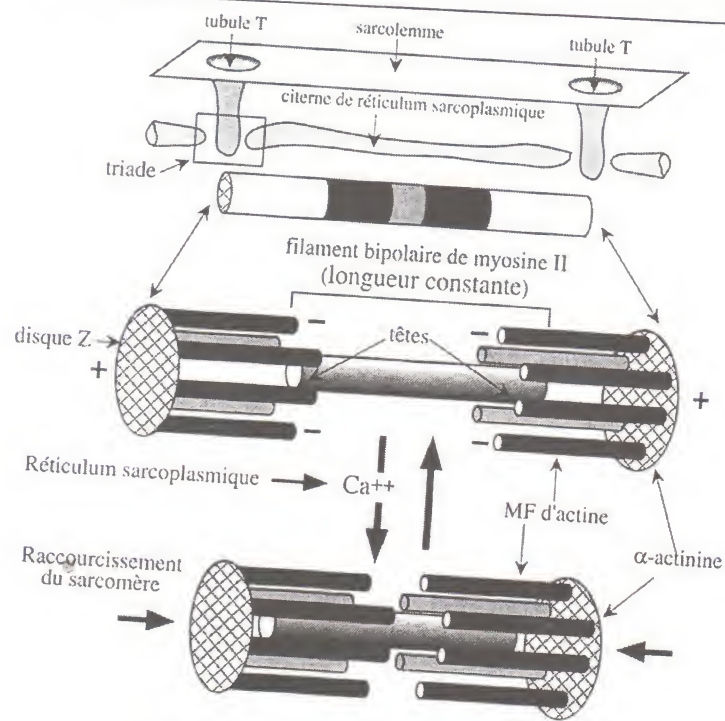
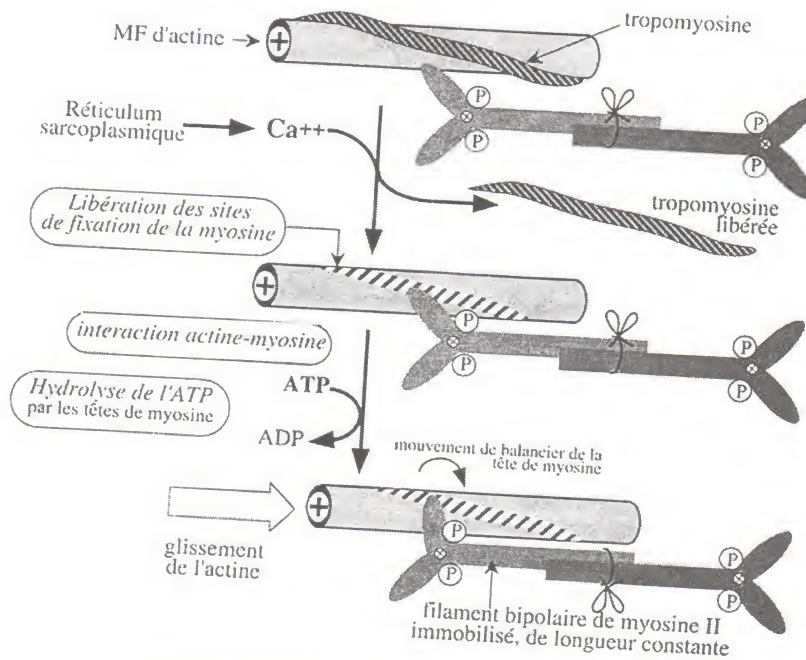


Planche VIII : Le transport vésiculaire.



Raccourcissement du sarcomère.



Glissement des têtes de myosine II.

Planche XI : Mécanisme moléculaire de la contraction musculaire.

Ce qu'il faut retenir :

Le cytosquelette est la charpente protéique qui soutient les organites intracellulaires et guide leurs déplacements dans le hyaloplasme.

Il représente la composante fibrillaire du hyaloplasme et comporte :

- **les microtubules** sont des polymères d'une protéine globulaire, la tubuline accompagnés de MAPs. Les complexes formés interviennent dans le contrôle de la morphologie (structure en faisceaux des neurotubules...) et dans la cinétique cellulaire (allongement de la cellule mère durant l'anaphase, migration des chromosomes et transports vésiculaires et d'organites).
- **les microfilaments fins** correspondent à des polymères polarisés et dynamiques d'une protéine globulaire, l'actine, auxquels s'associent plusieurs petites protéines hyaloplasmiques. Ces dernières inter pour réguler différentes fonctions : fluidifier le hyaloplasme pour permettre différentes réactions biochimiques, réaliser l'endocytose ou l'exocytose et former des structures permanentes tel que microvillosités et jonctions.
- **les microfilaments épais** sont présents à l'état de protéine fibrillaire, soit à l'état monomérique ou dimérique : myosine I ou à l'état polymériques bipolaires : myosine II des myofibrilles. Quel que soit leur arrangement, ces filaments interagissent avec les filaments d'actine et engendrent des mouvements contractiles plus ou moins complexes.
- **les filaments intermédiaires** représentent des polymères de protéines fibreuses, spécifique chacune d'un type cellulaire. Ils n'interviennent pas dans la motilité cellulaire, mais semblent jouer un rôle structural fondamental, car ils constituent la trame résistante des cellules et des tissus.

LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

INTRODUCTION

Le système endomembranaire caractérise les cellules eucaryotes. C'est un ensemble de cavités intracellulaires limitées par une cytomembrane et communiquant entre elles et avec le milieu extérieur par échange de compartiments vésiculaires. Le système endomembranaire regroupe principalement le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les lysosomes ainsi que les endosomes et les phagosomes.

A / LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

1. DEFINITION

Le réticulum endoplasmique (RE) correspond à un ensemble de cavités ou citernes, de canalicules ou vésicules. Les citernes peuvent être pourvues de ribosomes c'est l'ergastoplasme ou le réticulum endoplasmique rugueux dit encore réticulum endoplasmique granulaire (REG) ; ou dépourvues de ribosomes il s'agit alors du réticulum endoplasmique lisse (REL) nommé également réticulum agranulaire.

La répartition et l'abondance du REG et du REL varient en fonction du type cellulaire, et pour une même cellule, en fonction de son état physiologique. Par exemple le REG est abondant dans les cellules embryonnaires, les cellules mitotiques et les cellules du pancréas exocrine. Le REL est plutôt abondant dans les cellules qui synthétisent les lipides et les hormones stéroïdes tels que les adipocytes, les cellules du corps jaune, les cellules de la corticosurrénale et les cellules hépatiques.

2. ULTRASTRUCTURE

Sur coupes minces, observées au MET, les membranes du RE apparaissent tristratifiées épaisses de 60Å (inférieure à celle de la membrane plasmique). Elles présentent une face hyaloplasmique et une face luminale.

Le REG est composé de cavités aplaties délimitées de membranes garnies de ribosomes sur la face hyaloplasmique. Ces cavités sont en continuité avec l'enveloppe nucléaire (Schéma 1).

Le REL correspond à un réseau de tubules et de cavités circulaires limitées par des membranes lisses.

3. COMPOSITION CHIMIQUE

3.1 Technique d'isolement

Les REG et REL sont isolés par UCD et UGD selon le procédé indiqué au Schéma 2.

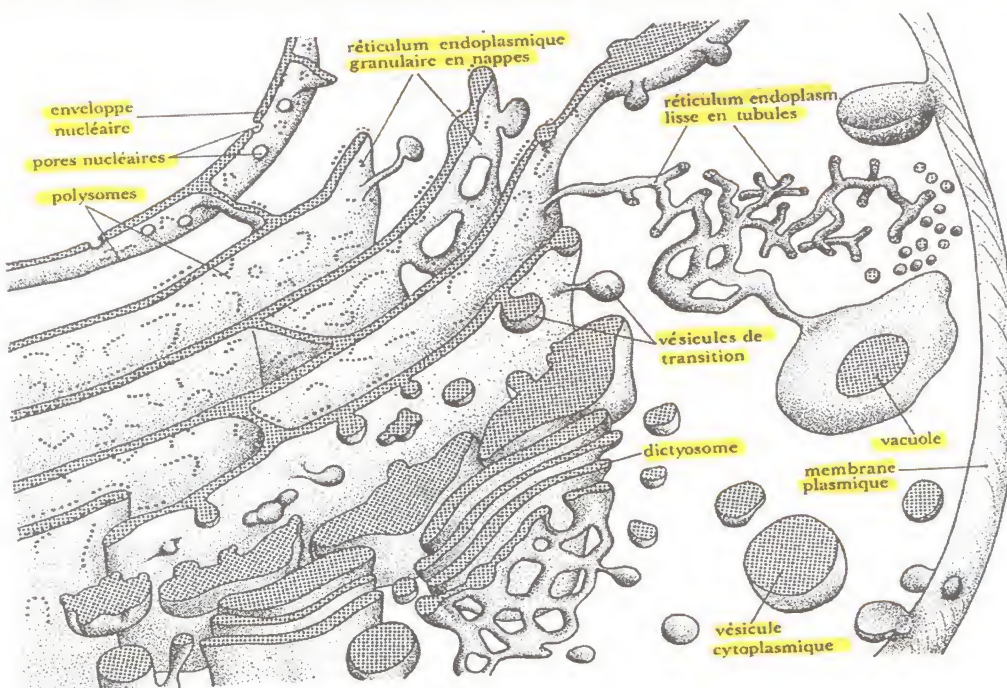


Schéma 1 : Représentation tridimensionnelle du système endomembranaire.

4 UCD successives + 1 UGD	
	<p>La fraction de réticulum endoplasmique est obtenue après cinq ultracentrifugations de l'homogénat cellulaire. Dans le tube 5 on note deux fractions. La fraction supérieure correspond aux microsomes lisses : microsomes du REL, de l'appareil de Golgi et de la membrane plasmique. La fraction inférieure comporte des microsomes rugueux renfermant des ribosomes et les membranes du REG.</p>

Schéma 2 : Procédé d'isolement du réticulum endoplasmique.

3.2 Analyse biochimique

La composition biochimique des membranes du RE est très proche de celle de la membrane plasmique. Elle en diffère toutefois par une faible teneur en cholestérol et en glucides.

Les protéines sont essentiellement enzymatiques : les N- et les C- glycosyl transférases, les protéines disulfures isomérases (PDI), les peptidases et les cytochromes dont le P₄₅₀.

Les lipides sont riches en acides gras insaturés, ce qui donne une fluidité membranaire importante.

Les glucides, attachés aux protéines et aux phospholipides, se trouvent sur le côté luminal, déterminant ainsi l'asymétrie de la membrane.

Le contenu des cavités du RE est spécifique à chaque type cellulaire.

Ainsi, les cavités du REG des plasmocytes renferment surtout des immunoglobulines celles des fibroblastes, du pro collagène et celles des acini pancréatiques des protéines enzymatiques. Dans les citernes du REL des cellules musculaires (réticulum sarcoplasmique), on retrouve du Ca²⁺ et dans celles des cellules lutéales, des hormones stéroïdes.

4. FONCTIONS

4.1 Fonctions spécifiques au REG

4.1.1 Translocation et élongation des protéines solubles¹

La synthèse de l'ensemble des protéines cellulaires débute dans le hyaloplasme²

Par un mécanisme spécifique d'adressage, certaines de ces protéines pourront traverser la membrane du RE. Les protéines concernées par cette translocation sont :

- les protéines périphériques externes des cytomembranes;
- les composants de la matrice extracellulaire;
- les protéines destinées à l'excrétion : hormones peptidiques, enzymes intestinales, pancréatiques....

L'adressage de ces protéines au RE a lieu grâce à une séquence d'acides aminés hydrophobes qu'elles portent à leur extrémité N- terminale. Cette séquence est appelée séquence consensus ou peptide signal (*Planches I a et I b couleur*).

¹ les protéines membranaires subissent elles aussi un adressage par la SRP. Le mécanisme d'insertion est le même, mais la translocation de ces protéines est stoppée par une séquence d'arrêt de transfert induisant le blocage de la translocation.

² A l'exception des 13 protéines mitochondriales synthétisées à partir de l'ADN mitochondrial.

Plasmocyte : C avec RER très important et qui a la propriété de synthèse des IgM et IgG (les anticorps).

Dès qu'il émerge du ribosome, le peptide signal est reconnu par un complexe ribonucléoprotéique hyaloplasmique dit SRP (Signal Recognition Particule).

Le complexe SRP- peptide signal se fixe, en présence de GTP, à son récepteur spécifique situé sur la membrane du RE.

Par la suite, le ribosome se lie, par sa grosse sous unité, à un deuxième complexe protéique : le translocon ou le complexe de translocation, fermé sur sa face luminale par une BiP: Binding Protein.

La SRP fixée à son récepteur, facilite l'engagement d'une portion de la protéine en cours d'élongation dans le translocon qui s'ouvre.

La protéine traverse la membrane du RE et pénètre progressivement dans la lumière de la citerne ergastoplasmique, poussée par l'allongement de la chaîne polypeptidique et tirée par des protéines chaperons BiP localisées dans la lumière du RE.

La séquence signal devient enchâssée dans la membrane du RE.

La SRP se détache de son récepteur puis sera recyclée dans le hyaloplasme.

La traduction de l'ARNm se poursuit jusqu'au passage de la totalité de la chaîne polypeptidique dans la lumière du RE : c'est le phénomène d'élongation.

Une peptidase coupe alors la séquence signal et libère la protéine dans la lumière du RE.

Le REG réalise en même temps, la synthèse de plusieurs chaînes polypeptidiques identiques codées par le même ARNm.

4.1.2 Glycosylation et acquisition de la configuration définitive

La glycosylation correspond à une greffe (accrochage) de molécules oligosacharidiques sur une protéine (ou un lipide).

Les protéines qui transitent par le REG et l'appareil de Golgi sont susceptibles d'être glycosylées.

On distingue deux types de glycosylation : la N- glycosylation s'effectue dans le REG (*Schéma 3 couleur*) et la O-glycosylation dans le Golgi.

Le RE est aussi responsable de la C- glycosylation : des résidus mannose (fournis par le dolichol) sont accrochés sur un carbone du premier tryptophane engagé dans la séquence -Trp- X-X- Trp-.

La N-glycosylation s'effectue comme suit:

- accrochage d'une arborisation sucrée de 14 résidus glycosyl à un lipide membranaire, le dolichol phosphorylé. Cet oligosaccharide est formé de 2 N-acetyl glucosamines, 9 mannoses et 3 glucoses.
- bascule de la molécule par un mécanisme de flip-flop
- transfert en bloc à un résidu d'asparagine de la protéine en cours de traduction par une N-glycosyl transférase. Cette greffe est réalisée sur le groupement aminé dans une séquence -Asn- X- Ser- ou Asn- X- Thr (d'où l'appellation N-glycosylation).

- modification de l'arbre oligosacharidique par élagage de 4 résidus sucrés (1 mannose et 3 glucoses) grâce aux glycosidases.

Plusieurs mécanismes contribuent à donner aux protéines néo synthétisées leur configuration définitive.

- La protéines-disulfure isomérase (PDI), enzyme soluble, catalyse à la fois le clivage des liaisons disulfures établies au hasard, dès que la partie néosynthétisée de la protéine est entrée dans la lumière du RE, et la formation des ponts disulfures définitifs.

- Les BiP, participent au repliement des protéines N glycosylées pour l'acquisition de leur configuration en trois dimensions.

Remarque :

Avant leur exportation les protéines solubles ou transmembranaires néo synthétisées subissent « un contrôle de qualité ». En effet une protéine mal configurée s'accumule dans le RE puis repasse dans le hyaloplasme, via le translocon pour y être dégradée par le protéasome.

4.2 Fonctions spécifiques au REL

4.2.1 Biosynthèse des phospholipides membranaires

Le REL est le lieu de synthèse des lipides membranaires. Il assure ainsi le renouvellement des membranes de tous les organites.

Les molécules de phospholipides et le cholestérol synthétisées dans le cytoplasme se mettent en place directement dans le feuillet cytoplasmique de la membrane du RE (*Schéma 4 couleur*). Les phospholipides se construisent progressivement, à partir de molécules précurseurs présentes dans le hyaloplasme: les acides gras, le glycérol et un nucléotide, le CDP : cytosine di phosphate. Le CDP est associé à une base (sérine, choline...). Les acides gras sont préalablement activés par le coenzyme A. Ces phospholipides ont 2 devenir :

- ils peuvent rester dans la membrane du RE et basculer du feuillet cytosolique au feuillet luminal grâce aux flippases. Les flippases sont des complexes enzymatiques ATP dépendantes qui favorisent le passage de la choline plus que celui de l'éthanolamine ou de la sérine ce qui est à l'origine de l'asymétrie de répartition des phospholipides membranaires.

L'asymétrie de la composition en lipides et en protéines des bicouches du RE est conservée dans les vésicules de bourgeonnement et dans la membrane des organites cibles avec lesquels fusionnent ces vésicules. Ainsi la monocouche externe du REL se retrouvera à la face interne de la membrane plasmique.

- les phospholipides peuvent se lier à des transporteurs hyaloplasmiques qui les arrachent individuellement du feuillet cytosolique de la membrane du RE. Ils seront adressés aux membranes des mitochondries, des peroxysomes et stockés sous forme de gouttelettes lipidiques.

4.2.2 La synthèse des hormones stéroïdes

Dans des cellules sécrétrices endocrines tel le cortex surrénalien, la thèque interne, les cellules lutéales de l'ovaire et les cellules de Leydig du testicule, le REL coopère avec les mitochondries pour la synthèse des hormones stéroïdes (*Schéma 5 couleur*).

Ces synthèses se déroulent grâce à l'intervention de plusieurs enzymes de la famille des Cytochromes dont le P_{450} . Ces complexes enzymatiques sont situés à la fois sur la face cytosolique des membranes du REL et dans les membranes internes mitochondriales. En utilisant l' O_2 et les électrons fournis par le NADPH, les Cytochromes P_{450} de la membrane mitochondriale hydroxylent un précurseur des stéroïdes : la prégnénolone, synthétisée dans la matrice à partir du cholestérol. Deux types de dérivés sont produits :

- des hormones stéroïdes ex : oestrogènes, androgènes, progestérones et aldostérone seront exportés dans le milieu extracellulaire vers la circulation sanguine.
- la progestérone retourne dans la matrice mitochondriale où d'autres cytochromes P_{450} de la membrane interne l'utilisent pour synthétiser le cortisol qui repasse dans le hyaloplasme avant son exportation vers la membrane plasmique.

4.2.3 Stockage du Ca^{++} intracellulaire

Toutes les cellules renferment des citernes spécialisées du REL servant au stockage du calcium.

Dans les cellules musculaires striées ou cardiaques où le Ca^{++} est indispensable à la contraction musculaire, le REL est très développé ; il est nommé le réticulum sarcoplasmique.

Le stockage et la libération du calcium de ses sites de stockage fait intervenir trois types de protéines :

- la pompe à calcium, ATP dépendante, qui transporte le Ca^{++} cytoplasmique vers la lumière du REL ;
- des protéines de fixation du calcium dans la lumière des citernes du REL, la calséquestrine des cellules musculaires ;
- un canal de libération du calcium, IP_3 dépendant ou des canaux potentiel dépendants. La rhyanodine (alcaloïde végétal) bloque l'ouverture de ce dernier.

4.2.4 La détoxification

Le processus de détoxification intéresse surtout des molécules liposolubles. Leur hydroxylation au contact des membranes du REL les rend plus hydrosolubles facilitant ainsi leur extraction du hyaloplasme et donc leur élimination³.

³ Le processus d'hydroxylation permet également l'apparition des formes actives de plusieurs médicaments mais aussi de molécules toxiques cancérogènes.

La détoxification concerne des substances toxiques d'origine exogène comme les drogues, certains médicaments, le phénobarbital... ; ou d'origine endogène : métabolites produits dans le hyaloplasme comme la bilirubine issue du catabolisme de l'hémoglobine.

Cette activité est très prononcée dans le foie, les reins, les poumons et la peau. (Schéma 6 couleur).

Elle se déroule selon les étapes suivantes :

1. première hydroxylation dans le hyaloplasme grâce à l'O₂ et le NADPH ;
2. insertion de la molécule à la membrane du REL ;
3. deuxième hydroxylation sur la face cytosolique grâce aux cytochromes P450 ;
4. translocation des molécules hydroxylées dans la lumière du REL où elles sont couplées à d'autres composés hydrosolubles comme l'acide glycuronique ce qui augmente leur hydro-solubilité et diminue leur toxicité.

Les molécules ainsi solubilisées sont véhiculées vers la membrane plasmique où elles seront rejettes par exocytose. Ex : dans le foie, l'alcool ingéré, se transforme en produits hydroxylés éliminés par exocytose dans les canaux biliaires.

B / L'APPAREIL DE GOLGI

1. DEFINITION

Il a été observé la première fois au microscope photonique par le biologiste Golgi en 1898 dans les cellules nerveuses où il se présente sous forme de petites écailles, localisées près du noyau.

2. ULTRASTRUCTURE

L'appareil de Golgi correspond à l'ensemble des dictyosomes d'une cellule.

Au MET, un dictyosome apparaît formé d'un empilement de 4 à 10 saccules incurvés à bords dilatés, limités par une membrane tristratifiée et séparés les uns des autres par une bande hyaloplasmique. Chaque dictyosome est environné de vésicules de taille différentes.

Cette organisation est en partie assurée par l'interaction membranes des saccules – microtubules, comme en témoigne la désorganisation de l'appareil de Golgi causée par des drogues dépolymérisantes tel que la colchicine. L'actine et ses protéines associées contribuent aussi à la cohésion des citernes golgiennes entre elles.

On compte en moyenne 20 dictyosomes par cellule; mais ce nombre peut varier selon l'état physiologique et le type cellulaire.

Ex : dans la cellule glandulaire ainsi que dans la cellule nerveuse, l'appareil de Golgi est très développé ; il l'est moins bien dans la cellule musculaire.

Chaque dictyosome est polarisé et subdivisé en trois régions fonctionnelles différentes (*Schéma 7*) :

- des saccules de la face Cis ou face d'entrée encore dite face CGN (Cis Golgi Network) alimentés par un matériel provenant de l'ERGIC (Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment)
- des saccules de la région médiane
- un saccule de la face trans ou face de sortie en continuité avec un réseau de canalicules constituant le TGN (Trans Golgi Network).

L'épaisseur des membranes des saccules Cis est de 60 Å alors que celle des saccules Trans est de 75 Å.

Des vésicules de dimension variable, accompagnent les saccules golgiens ; elles sont classées en deux types :

- des vésicules et des tubules provenant de l'ERGIC, entre la face Cis et le REG,
- des vésicules de sécrétion situées sur la face Trans, bourgeonnant des saccules golgiens. Leur contenu peut être dense, elles sont alors nommées grains de sécrétion ou vacuoles. Ces dernières sont présentes notamment dans les cellules sécrétrices de protéines destinées à l'exportation.

3. COMPOSITION CHIMIQUE

3.1 Technique d'isolement

Selon le procédé employé pour préparer l'homogénat, la fraction obtenue n'a pas la même composition (*Schéma 8*).

En effet quand l'homogénat est réalisé brutalement (conditions habituelles), la fraction microsomes lisses, que l'on sépare par UGD, renferme à la fois des éléments golgiens (saccules fragmentées, vésicules de transition et de sécrétion), des vésicules provenant du

REL et des vésicules de membrane plasmique, ces composants sont difficilement séparables.

En faisant l'homogénat dans des conditions plus douces (broyage à faible vitesse), les dictyosomes sont assez bien conservés et, on peut séparer par centrifugation, des piles de saccules et des dictyosomes entiers en une fraction unique.

3.2 Analyse chimique

Les membranes des saccules golgiens renferment des lipides et des protéines ; les glucides sont en quantité négligeable.

Les lipides : 35% : taux intermédiaire entre celui du RE et celui de la membrane plasmique. La fluidité est également intermédiaire.

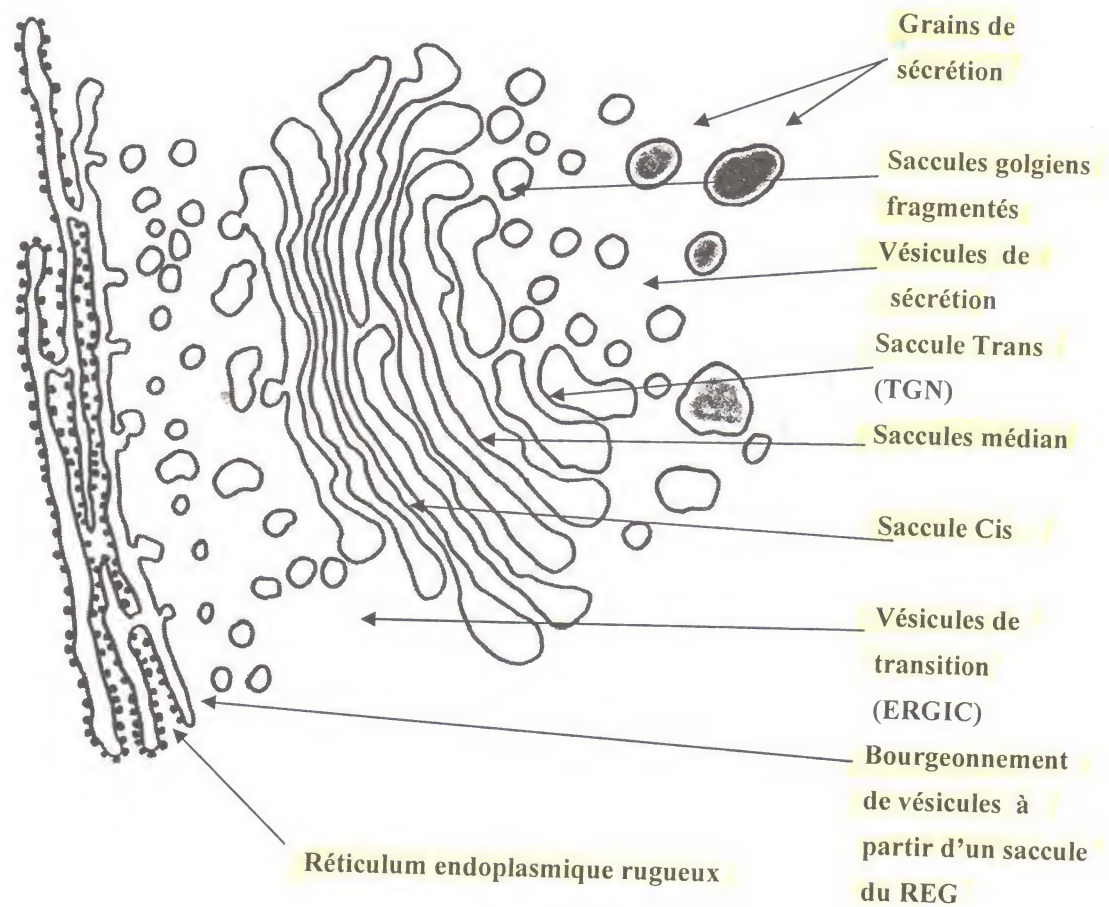


Schéma 7 : Représentation schématique de l'ultrastructure d'un dictyosome Golgien.

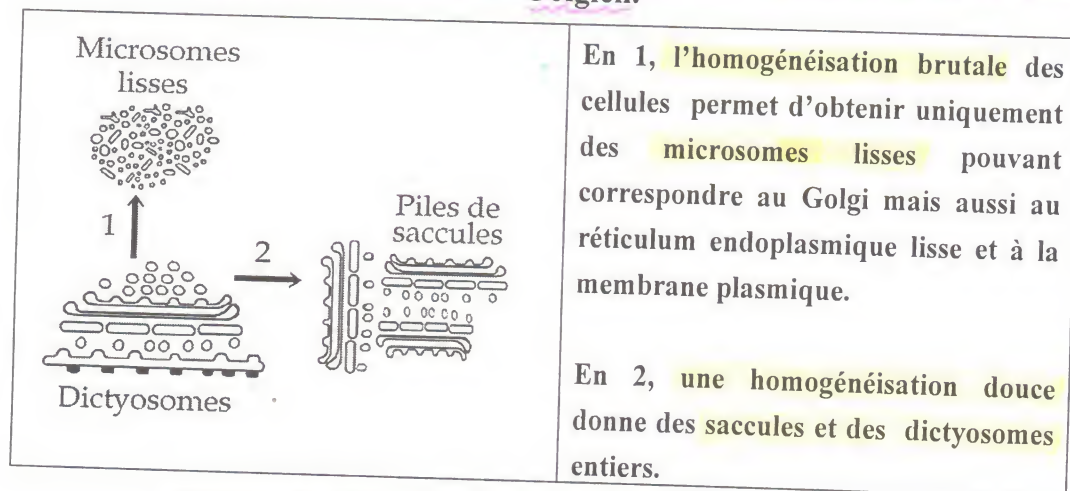


Schéma 8 : Procédé d'isolement de fractions golgiennes.

Les protéines peuvent être réparties en :

- protéines communes avec le RE parmi lesquelles, le cytochrome b_5 et les glycosyl transférase moins abondantes que dans le RE.
- protéines particulières au Golgi essentiellement les phosphatases des saccules Cis ; la sulfotransférase des saccules Trans et les protéases.

Le contenu des cavités des saccules golgiens est presque le même que celui des cavités du RE, mais à des concentrations différentes et surtout enrichi en polysaccharides.

4. FONCTIONS

4.1 O-Glycosylation

Elle a lieu dans les saccules médians et trans du Golgi et se déroule comme suit :

1. les sucres (galactose, NANA...), synthétisés dans le hyaloplasme sont complexés un à un à des nucléotides comme l'UDP (Uridine Di Phosphate)
2. pénétration dans la lumière du saccule via une perméase antiport ;
3. déphosphorylation de l'UDP en UMP sous l'action d'une nucléoside di phosphatase (marqueur des saccules trans)
4. accrochage du galactose par une O-glycosyl transférase sur l'oxygène porté par l'acide aminé sérine ou thréonine de la protéine. Ceci correspond à une maturation de la protéine N-glycosylée (*Schéma 9 couleur*).

Comme la N- glycosylation, la O- glycosylation concerne aussi bien les protéines solubles que les protéines transmembranaires sur leur domaine luminal.

A la différence des oligosaccharides N- liés, les oligosaccharides O- liés sont bâtis progressivement ose par ose sur la protéine.

4.2 Emballage des produits de synthèse

Le marquage des protéines au cours de leur synthèse par la leucine tritiée, montre que les produits de synthèse cheminent du REG vers le CGN, grâce aux vésicules de transition.

1. Les protéines pénètrent dans le Golgi par la face Cis (CGN), transitent par les saccules médians pour gagner la face Trans (TGN).
2. Elles sont ensuite emballées dans des vésicules de sécrétion (*Schéma 10 couleur*).
3. Ces dernières sont aussitôt secrétés ou stockées sous forme de granules puis secrétées lors d'une stimulation.

Le matériel de sécrétion peut être une hormone : le glucagon, un neuropeptide hypophysaire, une enzyme pancréatique : trypsinogène, ou un protéoglycane de la membrane plasmique et de la matrice extracellulaire.

Au cours de son transport granulaire, le matériel emballé est souvent immature, puis subit à l'intérieur des grains de sécrétion une protéolyse. Exemple : dans le pancréas endocrine la proinsuline est clivée pour donner de l'insuline ; pour les neuropeptides, une seule prohormone de grande taille peut donner plusieurs hormones de petite taille.

4.3 Phosphorylation des glycoprotéines enzymatiques solubles des lysosomes

Au niveau des saccules Cis du Golgi les protéines membranaires solubles Nglycosylées destinées aux lysosomes, doivent subir une phosphorylation indispensable à leur maturation en enzymes digestives (*Planche IV couleur*).

Cette phosphorylation se produit en 2 étapes :

- une N-acétyl-glucosamine phospho-transférase (GlcNac-P-transférase) accroche un résidu N-acétyl-glucosamine-phosphatase (GlcNac-P) au carbone 6 des résidus mannose : séquence signal de phosphorylation.
- une deuxième enzyme, la N-acétyl-glucosamine phospho-glucosidase libère le GlcNac. Par la suite les enzymes porteurs de mannose-6-Phosphate sont transportés jusqu'au Golgi Trans où ils sont reconnus par une glycoprotéine transmembranaire : le récepteur du mannose-6-P.
- les enzymes lysosomales fixées à leurs récepteurs bourgeonnent du TGN et sont adressées au compartiment endosomal.

4.4 Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire

Cette réaction fait appel à des sulfo-transférases et se produit dans les saccules trans.

Le donneur de sulfate, le phospho-adénosine-phospho-sulfate (PAPS), est synthétisé dans le hyaloplasme et pénètre dans la lumière des saccules golgiens par une perméase.

Le radical sulfaté, est par la suite transféré aux sucres ou à certains acides aminés tel la tyrosine.

La sulfatation concerne des composants destinés à la matrice extracellulaire comme les glycoprotéines les protéoglycannes et les glycosaminoglycannes.

4.5 Tri et adressage des produits de sécrétion

Les protéines synthétisées dans le REG transitent successivement par le CGN, la partie médiane du Golgi puis par le TGN.

Le transport entre ces compartiments est assuré par des canalicules ou des vésicules.

Celles qui bourgeonnent des saccules trans golgiens véhiculent le produit de sécrétion aux endosomes, aux lysosomes, aux phagosomes ou vers la membrane plasmique.

Ce transfert est appelé flux vectoriel permanent centrifuge (*Planche II*).

Selon le type de matériel de sécrétion, ce flux se subdivise en deux voies : la sécrétion constitutive et la sécrétion régulée ou stimulée.

- La sécrétion constitutive concerne les protéoglycannes de la membrane plasmique et de la matrice extracellulaire et les glucoaminoglycanes (GAG) de cette dernière. Ces produits sont emballés dans des vésicules recouvertes de coatomères.

- Dans la sécrétion régulée, les produits à sécréter, hormones ou enzymes digestives sont emballées dans des vésicules recouvertes de clathrine.

Les deux types de sécrétion se font en quatre étapes successives:

1. bourgeonnement de vésicules recouvertes à partir du Golgi trans,
2. enlèvement du revêtement, et formation de vésicules déshabillées marquées par des protéines membranaires dites v-SNAREs,
3. transport des vésicules vers le compartiment receveur doté de protéines membranaires réceptrices dites t-SNAREs,
4. fusion de la membrane des vésicules avec celle du compartiment receveur après reconnaissance des signaux v-SNAREs par les récepteurs t-SNAREs (*Schéma 11 couleur*).

Entre le RE et les dictyosomes existent deux autres flux membranaires (*Planche II*) :

- Flux centripète vers le RE

Il correspond à une voie de retour vers le RE de vésicules bourgeonnant des saccules Cis golgiennes. Ces dernières recouvertes de clathrine viennent fusionner au niveau des canalicules de l'ERGIC (après perte de leur revêtement), permettant ainsi un recyclage des membranes du REG.

- Flux centripète vers le Golgi

Pour limiter le travail de synthèse des biomembranes et des récepteurs de la cellule, il existe une autre navette de vésicules « nues » et vides, d'origine endosomale ou lysosomale via le TGN. Ce flux assure le processus de recyclage des récepteurs tel que celui du mannose 6 P.

Le compartiment endosomal

Il correspond à un territoire dynamique composé d'éléments tubulovésiculaires.

Deux types de compartiments membranaires s'y distinguent : les endosomes précoces et les endosomes tardifs ou CURL (*Planche III*).

Les endosomes précoces présentent un pH de 7,5 maintenu en dessous du pH cytosolique grâce à des pompes à protons. Cette acidité permet le tri des molécules importées par endocytose spécifique (voir le transport des LDL).

Les endosomes tardifs correspondent à une maturation des endosomes précoces, liée à une acidification de plus en plus prononcée par l'apport de vésicules provenant du TGN (pH ~ 6,5). Les produits de l'hydrolyse endosomale peuvent traverser la membrane de ce compartiment et passer dans le hyaloplasme.

Au terme de cette évolution, les endosomes tardifs évoluent en lysosomes actifs riches en hydrolases acides.

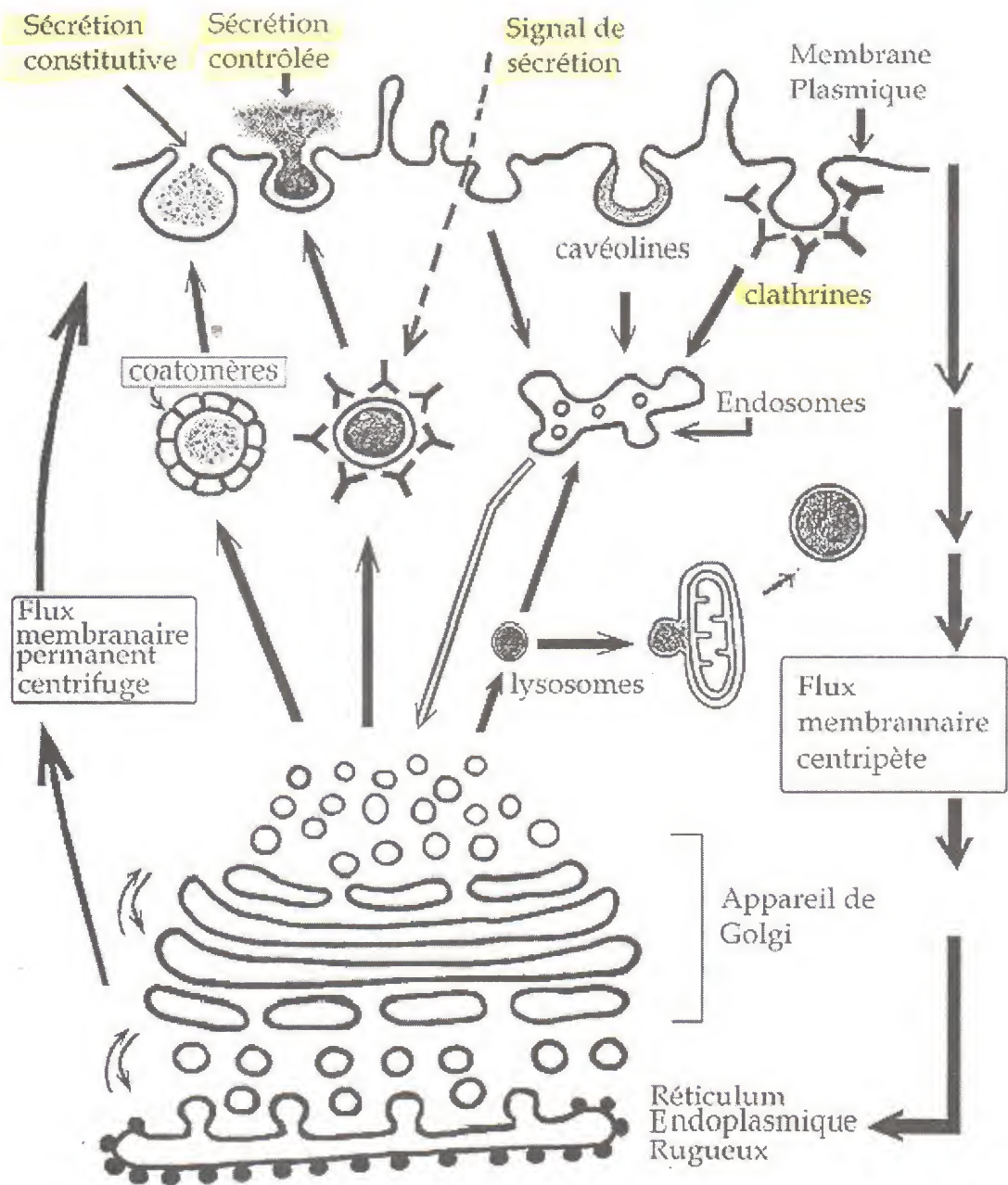


Planche II : Les flux membranaires.

C / LES LYSOSOMES

1. DEFINITION

Les lysosomes sont des organites hyaloplasmiques sphériques ou ovalaires de 0.1 à 2 μm de diamètre, limités par une cytomembrane épaisse de 60 à 100Å. La matrice granulaire plus ou moins dense contient des enzymes, actives en présence de molécules d'eau, dites hydrolases.

Les lysosomes sont présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies. Ils sont abondants dans les cellules à activité phagocytaire (macrophages) ou glandulaire (cellules hépatiques, thyroïdiennes...). Ces structures étant limitées par une membrane, il est évident qu'elles ne peuvent exister chez les procaryotes.

Dans la cellule, les lysosomes se déplacent en permanence grâce à leur liaison avec le cytosquelette.

Les lysosomes sont considérés comme des « appareils digestifs de la cellule ».

2. COMPOSITION CHIMIQUE :

2.1 Technique d'isolement

A partir d'un homogénat cellulaire (cellules hépatiques), les lysosomes sont récupérés au 2^{ème} culot d'une UCD avec les mitochondries et les peroxysomes.

Une UGD permet d'isoler la sous fraction lysosomes pure.

Ceux-ci mis dans des conditions entraînant une rupture membranaire par, l'utilisation d'un milieu hypotonique ou par agitation mécanique, suivis d'une centrifugation ; les fractions membranes et matrices sont alors récupérés séparément puis analysées.

2.2 Analyse chimique

La membrane lysosomale est composée de lipides et d'une trentaine de protéines différentes, en majorité glycoprotéiques.

On connaît quatre classes de glycoprotéines :

- des glycoprotéines structurales dont certaines sont utilisées comme marqueurs de ce compartiment tel Lamp1, Lamp2 et Lamp 3,
- des glycoprotéines enzymatiques tel la phosphatase acide,
- des ATPase- H^+ dépendantes qui assurent le maintien d'un pH acide à l'intérieur du lysosome,
- des perméase d'importation, permettent l'entrée dans la lumière lysosomale de molécules hyaloplasmiques destinées à la dégradation,
- des perméases d'exportation assurant la sortie des produits finaux du catabolisme lysosomal de la lumière des lysosomes vers le hyaloplasme ; c'est le cas des perméases pour les acides aminés, les acides gras et les sucres simples (*Schéma 12 couleur*).

C / LES LYSOSOMES

1. DEFINITION

Les lysosomes sont des organites hyaloplasmiques sphériques ou ovalaires de 0.1 à 2 μm de diamètre, limités par une cytomembrane épaisse de 60 à 100Å. La matrice granulaire plus ou moins dense contient des enzymes, actives en présence de molécules d'eau, dites hydrolases.

Les lysosomes sont présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies. Ils sont abondants dans les cellules à activité phagocytaire (macrophages) ou glandulaire (cellules hépatiques, thyroïdiennes...). Ces structures étant limitées par une membrane, il est évident qu'elles ne peuvent exister chez les procaryotes.

Dans la cellule, les lysosomes se déplacent en permanence grâce à leur liaison avec le cytosquelette.

Les lysosomes sont considérés comme des « appareils digestifs de la cellule ».

2. COMPOSITION CHIMIQUE :

2.1 Technique d'isolement

A partir d'un homogénat cellulaire (cellules hépatiques), les lysosomes sont récupérés au 2^{ème} culot d'une UCD avec les mitochondries et les peroxysomes.

Une UGD permet d'isoler la sous fraction lysosomes pure.

Ceux-ci mis dans des conditions entraînant une rupture membranaire par, l'utilisation d'un milieu hypotonique ou par agitation mécanique, suivis d'une centrifugation ; les fractions membranes et matrices sont alors récupérés séparément puis analysées.

2.2 Analyse chimique

La membrane lysosomale est composée de lipides et d'une trentaine de protéines différentes, en majorité glycoprotéiques.

On connaît quatre classes de glycoprotéines :

- des glycoprotéines structurales dont certaines sont utilisées comme marqueurs de ce compartiment tel Lamp1, Lamp2 et Lamp 3,
- des glycoprotéines enzymatiques tel la phosphatase acide,
- des ATPase- H^+ dépendantes qui assurent le maintien d'un pH acide à l'intérieur du lysosome,
- des perméase d'importation, permettent l'entrée dans la lumière lysosomale de molécules hyaloplasmiques destinées à la dégradation,
- des perméases d'exportation assurant la sortie des produits finaux du catabolisme lysosomal de la lumière des lysosomes vers le hyaloplasme ; c'est le cas des perméases pour les acides aminés, les acides gras et les sucres simples (*Schéma 12 couleur*).

La matrice contient plus de 60 hydrolases différentes. Ce sont des glycoprotéines enzymatiques solubles capables de lyser toutes les molécules d'origine cytoplasmique ou absorbées par la cellule.

Leur nature varie selon le type cellulaire. On y trouve essentiellement des protéases, des nucléases, des lipases, des phospholipases, des glycosidases, des phosphatases, des sulfatases...

Ces enzymes sont inactives à pH 7 et deviennent actives lorsque le pH devient acide, 4 à 5.

3. ULTRASTRUCTURE ET CLASSIFICATION

Les lysosomes sont très polymorphes en raison de l'hétérogénéité de leur taille et de leur contenu.

Deux catégories de lysosomes peuvent être distinguées selon l'origine du substrat à dégrader : les autolysosomes et les hétérolysosomes.

Les autolysosomes

Le matériel à digérer est d'origine intracellulaire ex : les organites sénescents tels que les mitochondries, appareil de Golgi...ou des molécules cytoplasmiques partiellement dégradées.

Ce matériel est contenu dans une vacuole dite autophagique qui se constitue à partir d'une citerne de REL spécialisée, entourant une fraction du hyaloplasme et le substrat présent localement.

Un autolysosome se constitue par la fusion d'un lysosome avec une vacuole autophagique. Dans l'autolysosome se produit la digestion ou autophagie de la membrane interne de la vacuole autophagique et de son contenu.

Les hétérolysosomes

Le matériel à dégrader est d'origine extracellulaire. Il entre dans la cellule sous forme d'une vésicule d'endocytose ou de pinocytose.

Dans le cas des macrophages et des polynucléaires neutrophiles la vésicule d'endocytose peut contenir des bactéries et des virus : elle est alors nommée vacuole de phagocytose ou phagosome.

Un hétérolysosome se constitue par la fusion d'un lysosome avec une vacuole hétérophagique.

Dans l'hétérolysosome se produit la digestion ou hétérophagie du contenu.

Remarque :

Certains autolysosomes ou hétérolysosomes âgés, dépourvus d'activité enzymatique, stockent les restes non hydrolysables ; ils constituent les corps résiduels. Ces derniers apparaissent comme de grains denses de taille variable. Ils peuvent être éliminés par exocytose (défécation cellulaire) ou persister jusqu'à la mort cellulaire. Ex : les figures myéliniques (accumulation de phospholipides) observées dans les neurones ; grains denses de pigments (concentration de lipofuscines dans les cellules sénescents....)

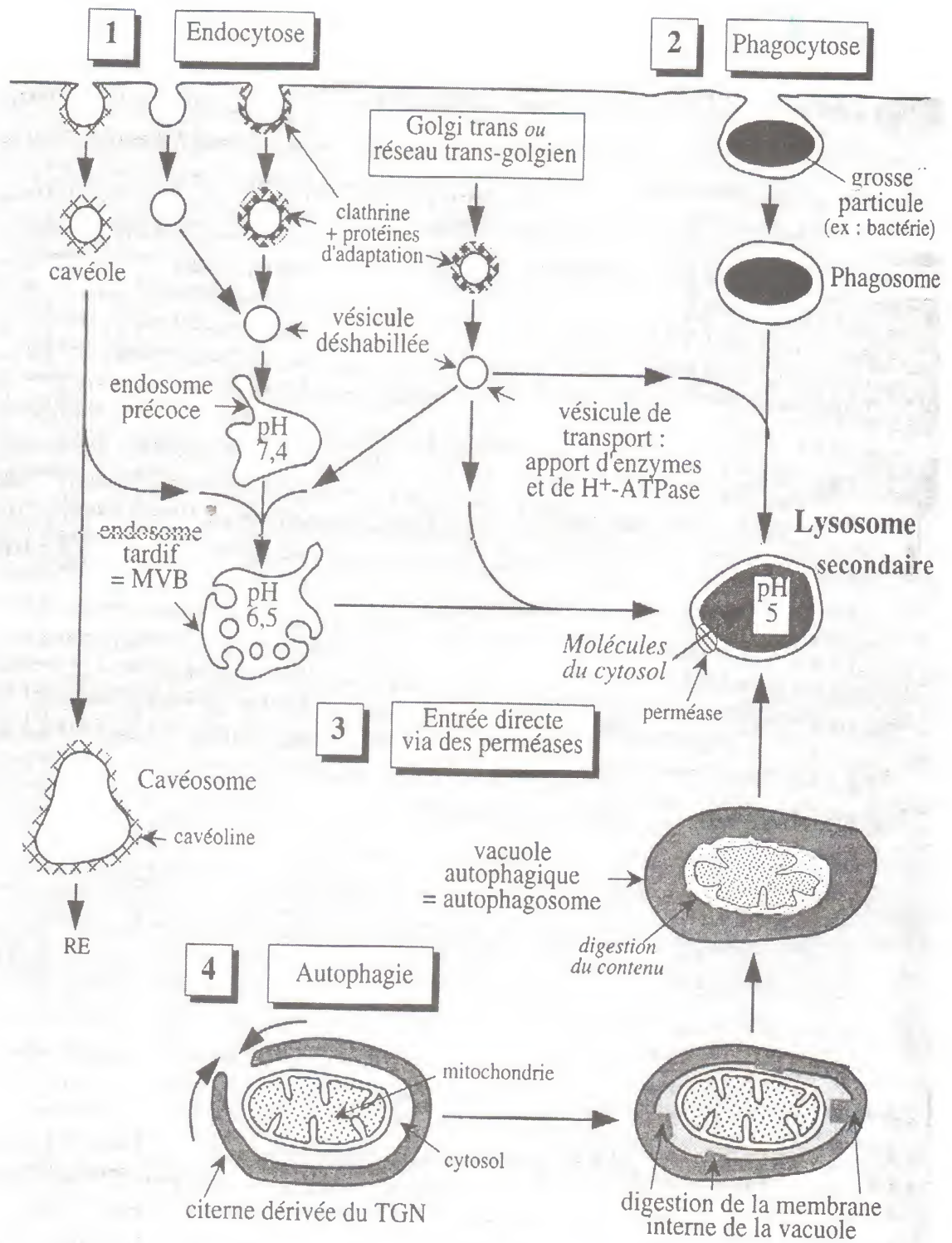


Planche III : les quatre voies d'entrée dans les lysosomes des matériaux à dégrader.

4. ROLES

Grâce à leur équipement enzymatique, les lysosomes jouent un rôle important dans la digestion cellulaire. Les substrats digérés sont d'origine variée.

On attribue au lysosome plusieurs rôles.

La nutrition cellulaire : le matériel prélevé du milieu extracellulaire ou du milieu intracellulaire, digéré par autophagie ou hétérophagie, permet à la cellule sa nutrition. Après dégradation, les composés se transforment en molécules simples (acides aminés, monosaccharides, les nucléotides....). Celles-ci traversent les membranes des lysosomes pour passer dans le cytoplasme où elles sont réutilisées.

La destruction des organites sénescents permet à la cellule un renouvellement continu de ses organites.

La défense de l'organisme et de la cellule par les macrophages et les polynucléaires contre les agents pathogènes : virus, bactéries ou leurs molécules constitutives

La crinophagie permettant la régulation de la sécrétion cellulaire par élimination de l'excédent de grains de sécrétion.

La fécondation des gamètes chez l'homme, se produit après dissolution de la membrane ovulaire par les enzymes lysosomales contenus dans l'acrosome des spermatozoïdes. Cette digestion extracellulaire favorise la pénétration du gamète mâle dans l'ovocyte.

La différenciation embryonnaire et métamorphose se produit par autolyse de territoires cellulaires entiers. Ceci s'observe par exemple lors de la formation du rein définitif chez le fœtus.

Le remodelage ou renouvellement osseux ou cartilagineux grâce aux ostéoclastes ou aux chondroclastes respectivement. Ces cellules phagocytaires de l'os et du cartilage sécrètent le contenu de leurs lysosomes actifs par exocytose dans la matrice extracellulaire et provoquent la digestion de la matrice extracellulaire (*Schéma 13*).

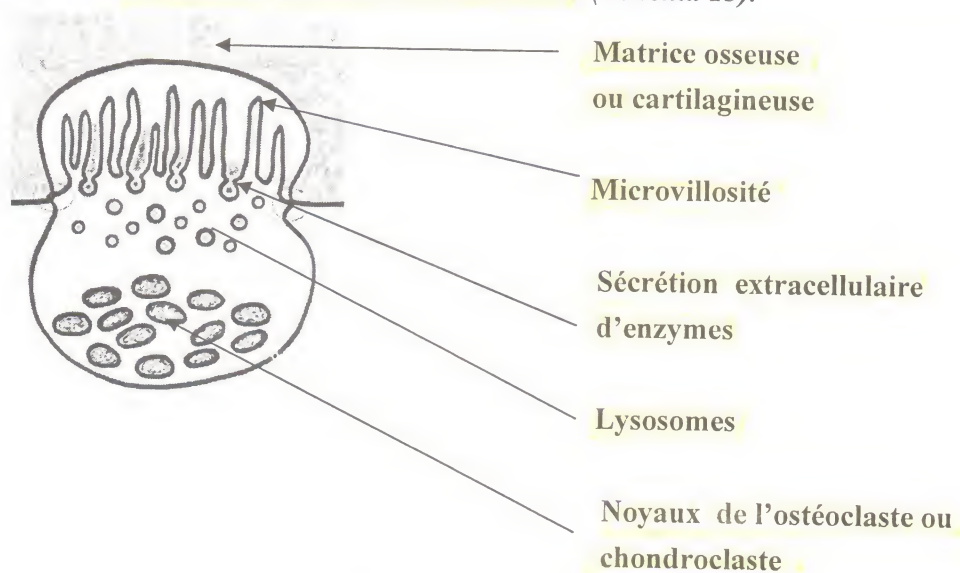


Schéma 13 : le remodelage osseux ou cartilagineux.

5. BIOGENESE

La formation des lysosomes comprend les étapes suivantes (*Planche III couleur*):

1. synthèse des hydrolases au niveau du REG,
2. transfert des enzymes aux saccules Cis golgiennes où elles subissent une phosphorylation de leur résidu mannose (M6P),
3. liaison des hydrolases aux récepteurs M6P au niveau des saccules trans,
4. bourgeonnement du TGN en vésicules recouvertes de clathrine et adressage au compartiment endosomal. Suite à une acidification progressive de ce dernier, les complexes enzyme-récepteur se dissocient.
5. les récepteurs M6P sont recyclés (flux centripète via Golgi), tandis que les enzymes perdent leur groupement phosphate et deviennent matures.

6. PATHOLOGIE

Chez l'homme de nombreuses pathologies de la fonction lysosomale sont connues ; parmi elles celles qui sont liées à :

- un déficit du transfert des enzymes lysosomales due à une déficience en N-acétyl glucosamine phosphotransférases : la formation du mannose 6 P ne peut se faire
- un déficit enzymatique en hydrolases lysosomales : maladies de surcharge. Ex : *maladie de Gaucher* due à un déficit en *cérébrosidases*
- la phagocytose de certaines substances comme la *silice* provoque la destruction des *lysosomes* et une réaction destructrice des *poumons* : maladie touchant les mineurs connue sous le nom de *silicose* (*Planche V couleur*)
- une destruction de la membrane lysosomale par de nombreux facteurs tels que les toxines bactériennes (*streptocoques*), les médicaments (*corticoïdes*), la chaleur

Ce qu'il faut retenir :

Le système endomembranaire est représenté essentiellement, par le réticulum endoplasmique granulaire, le réticulum endoplasmique lisse, l'appareil de Golgi et les lysosomes.

Le réticulum endoplasmique granulaire (REG) est un lieu de synthèse et le carrefour de distribution des protéines.

Le réticulum endoplasmique lisse (REL) est le site principal de synthèse des lipides.

L'appareil de Golgi sert à remanier, trier et adresser les protéines, glycoprotéines et glycolipides.

Les lysosomes contiennent une série d'hydrolases acides qui détruisent protéines, acides nucléiques, polysaccharides et lipides. Ces enzymes fonctionnent dans une matrice lysosomale acide.

Entre ces organites cellulaires existe un flux continu de membranes depuis leur lieu d'assemblage (REG / REL) jusqu'à la membrane plasmique. Ce flux est compensé par un flux rétrograde de la membrane plasmique vers les endosomes, voire vers, l'appareil de Golgi ou le REG.

ILLUSTRATIONS COULEUR

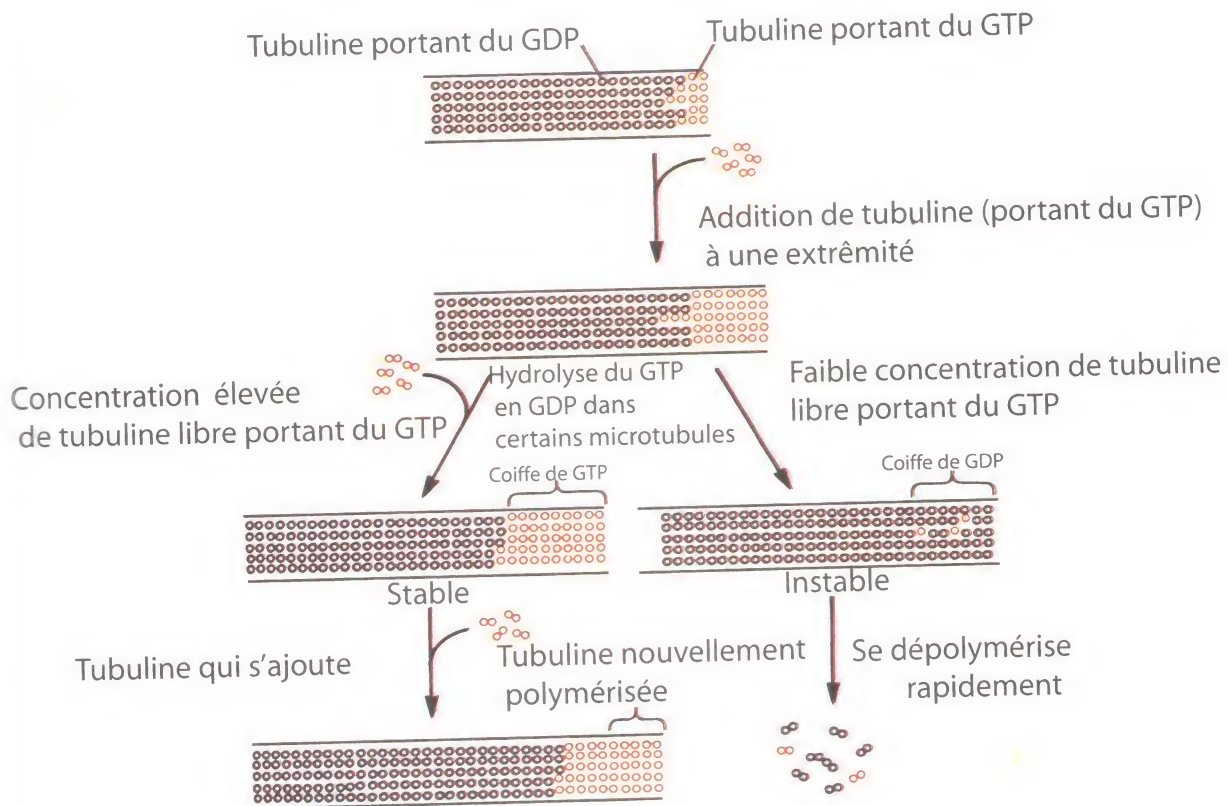


Schéma 3 : Dynamique des microtubules.

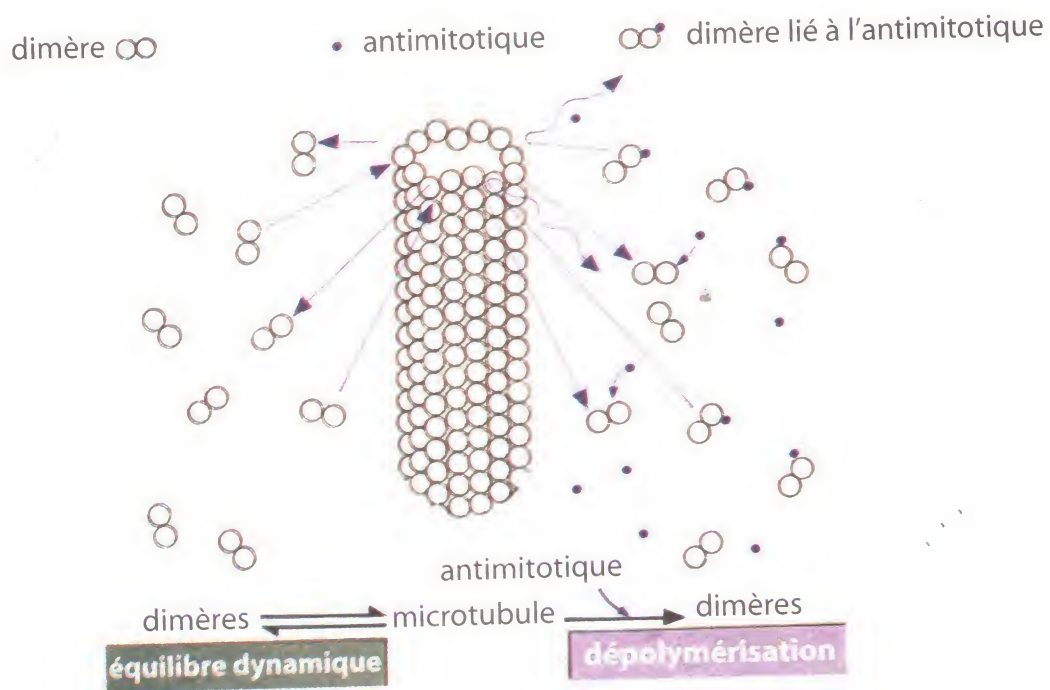


Schéma 4 : Effet des drogues sur les microtubules labiles.

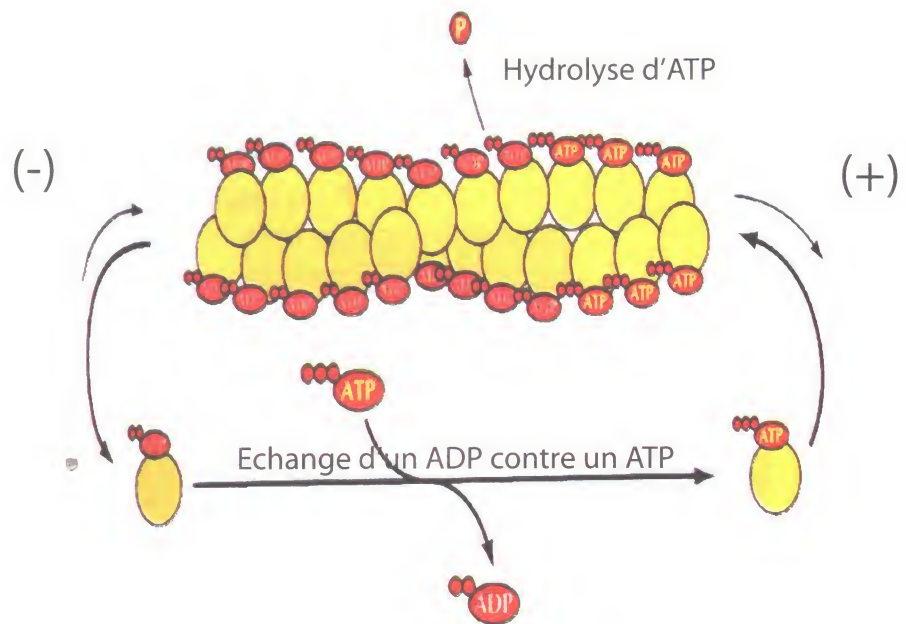


Schéma 8 : Dynamique des microfilaments d'actine.

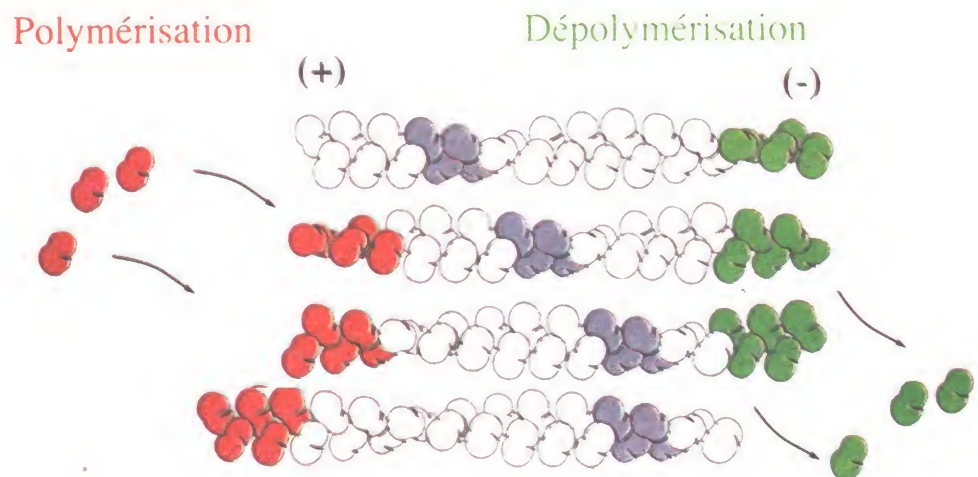


Schéma 9 : Tapis roulant.

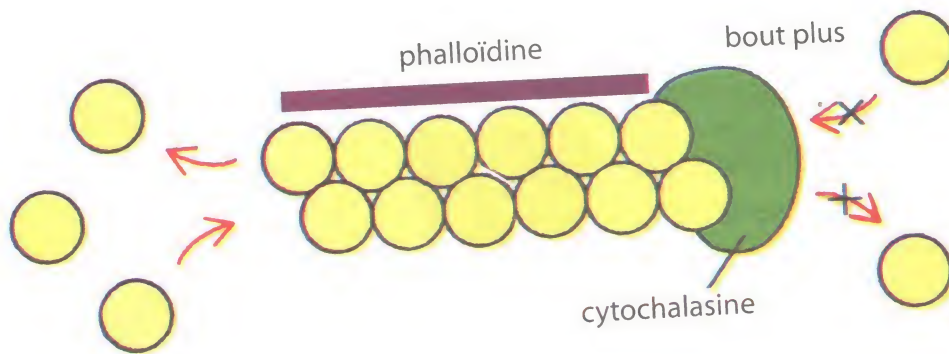


Schéma 10 : Effet de la cytochalasine et de la phalloïdine sur les microfilaments d'actine.

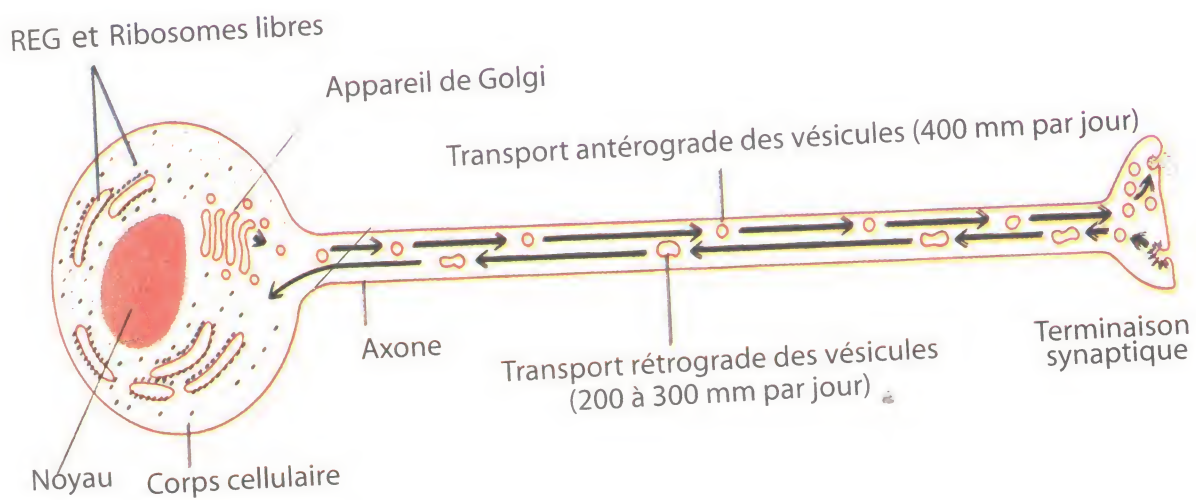


Schéma 12 : Transport antérograde et rétrograde des vésicules synaptiques.

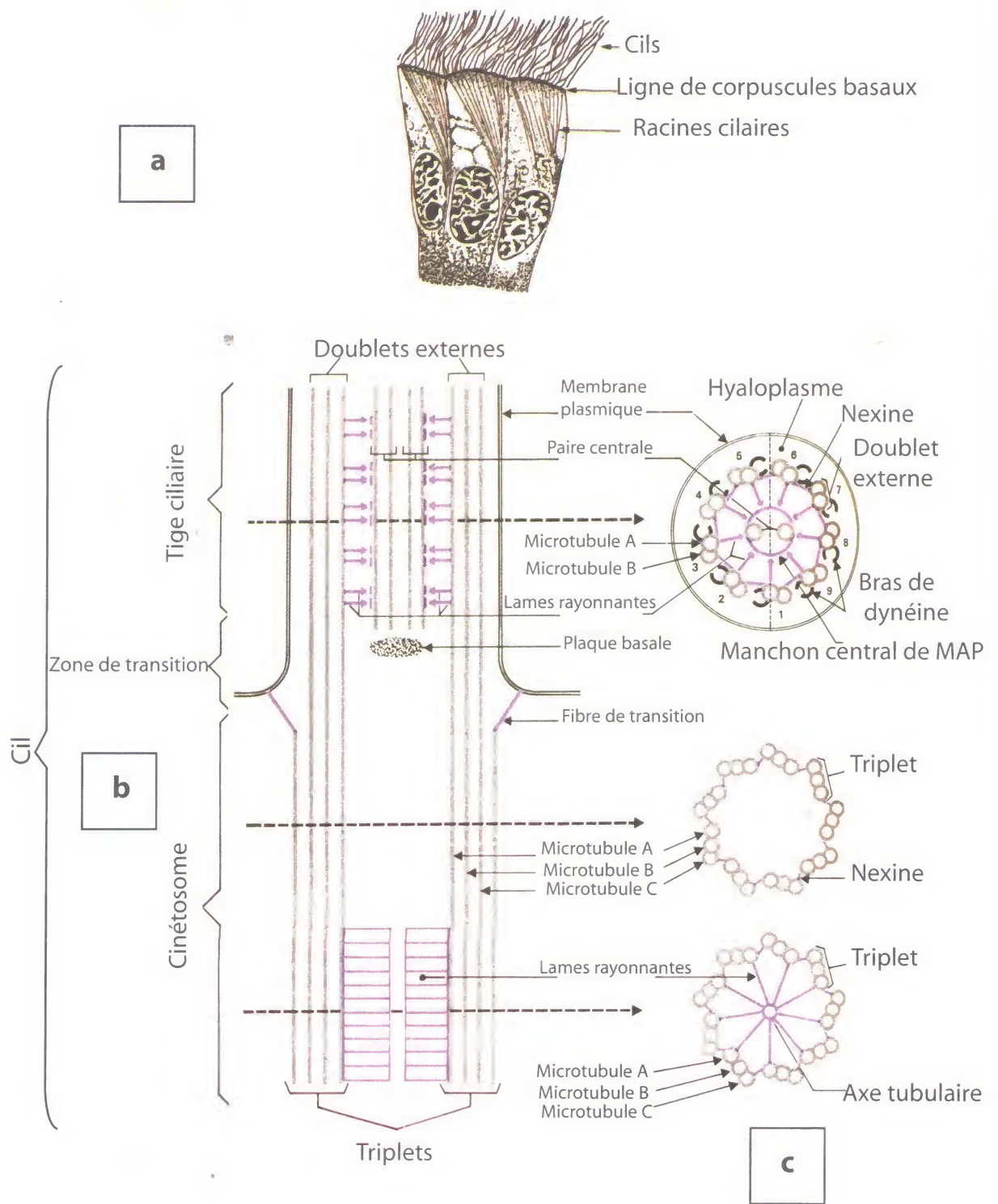
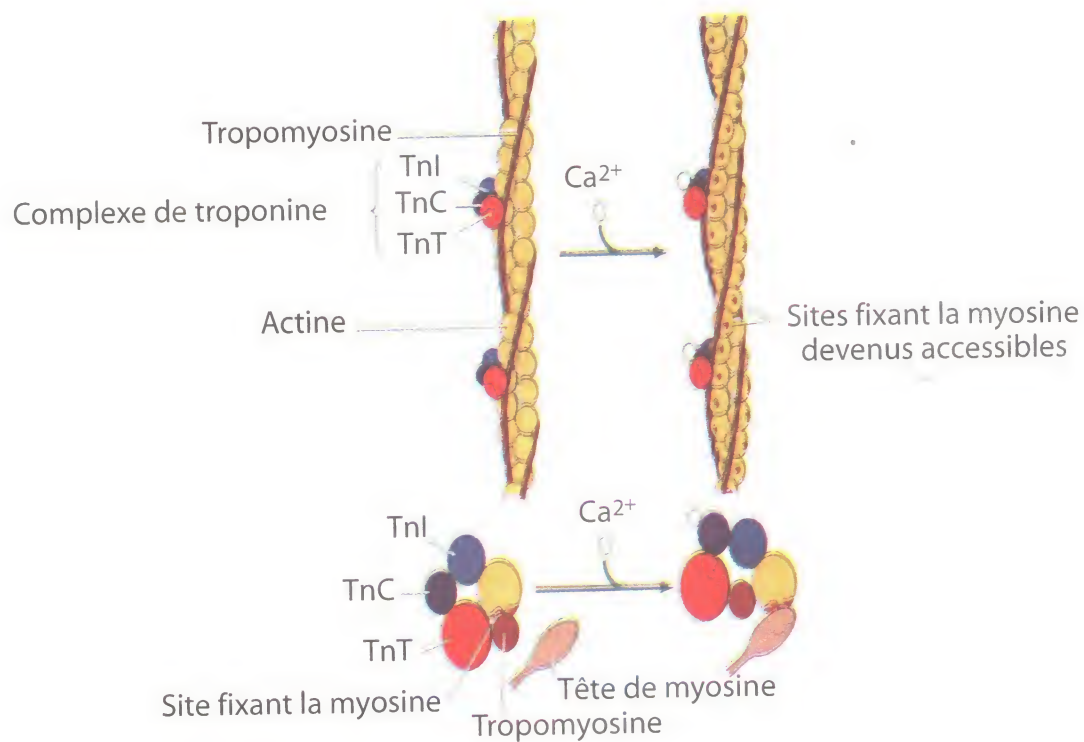
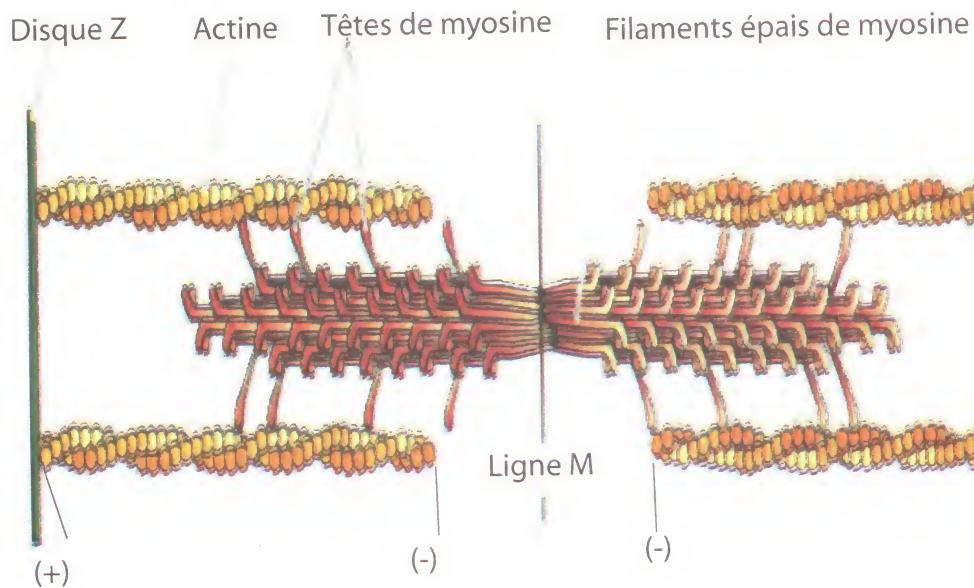


Planche II : Cellule ciliée en microscopie photonique (a) et ultrastructure du cil après coupes longitudinale (b) et transversales (c).

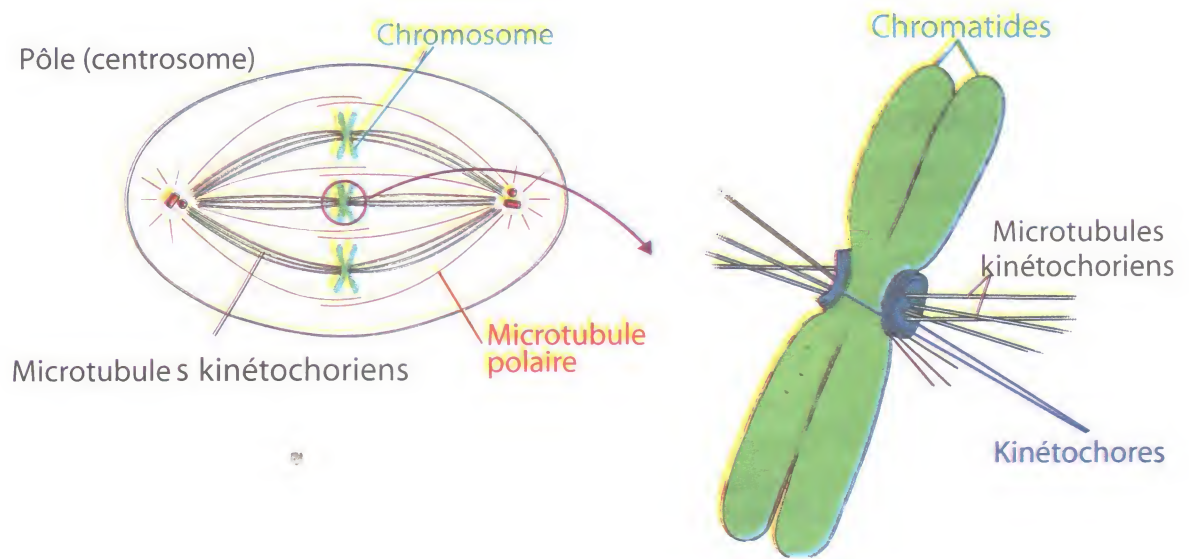


Complexe troponine tropomyosine.

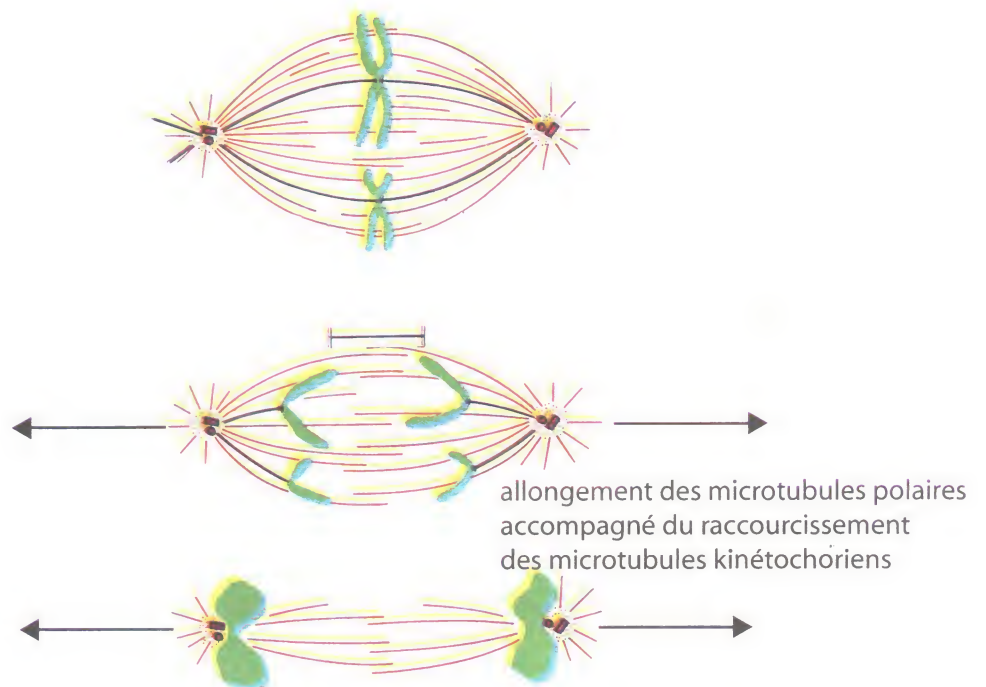


Filaments d'acto-myosine

Planche VI : Protéines associées à l'actine dans les cellules musculaires.



Microtubules du fuseau mitotique à la métaphase.



Microtubules du fuseau mitotique à l'anaphase.

Planche IX : Dynamique des microtubules du fuseau mitotique et mécanisme de séparation des chromosomes.

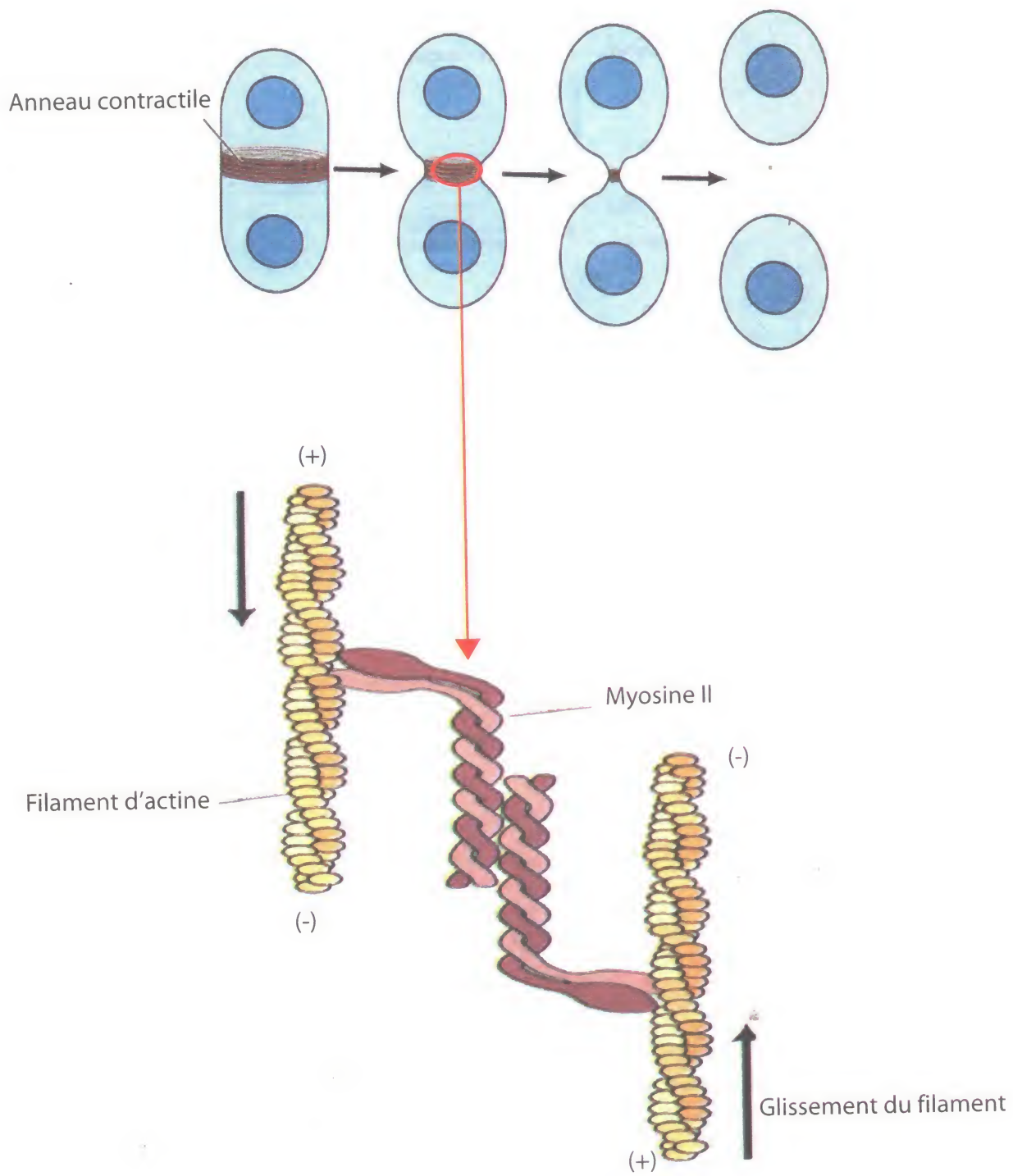


Planche X : La cytotdiérèse.

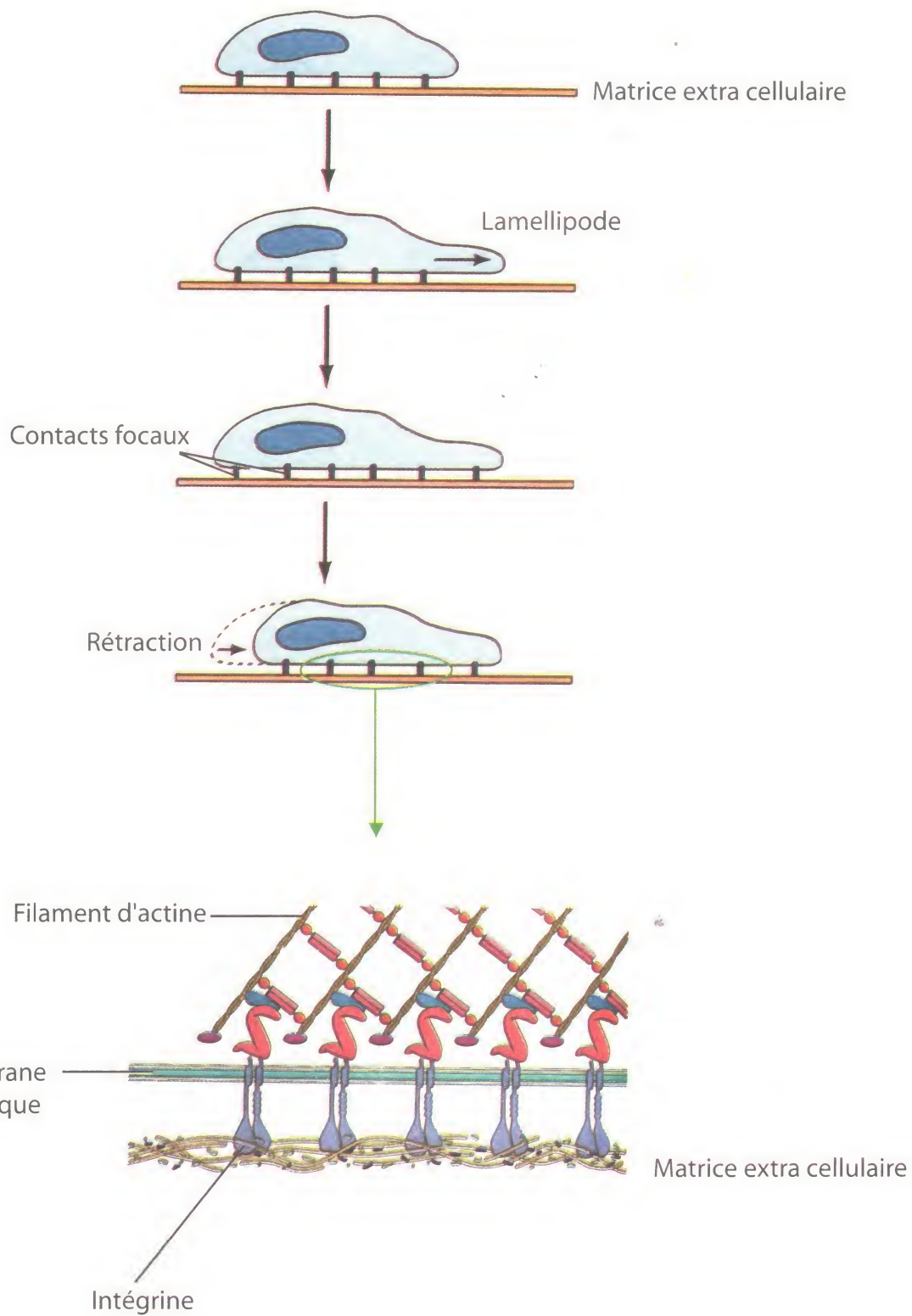


Planche XII: Mécanisme du mouvement amaeboïde.

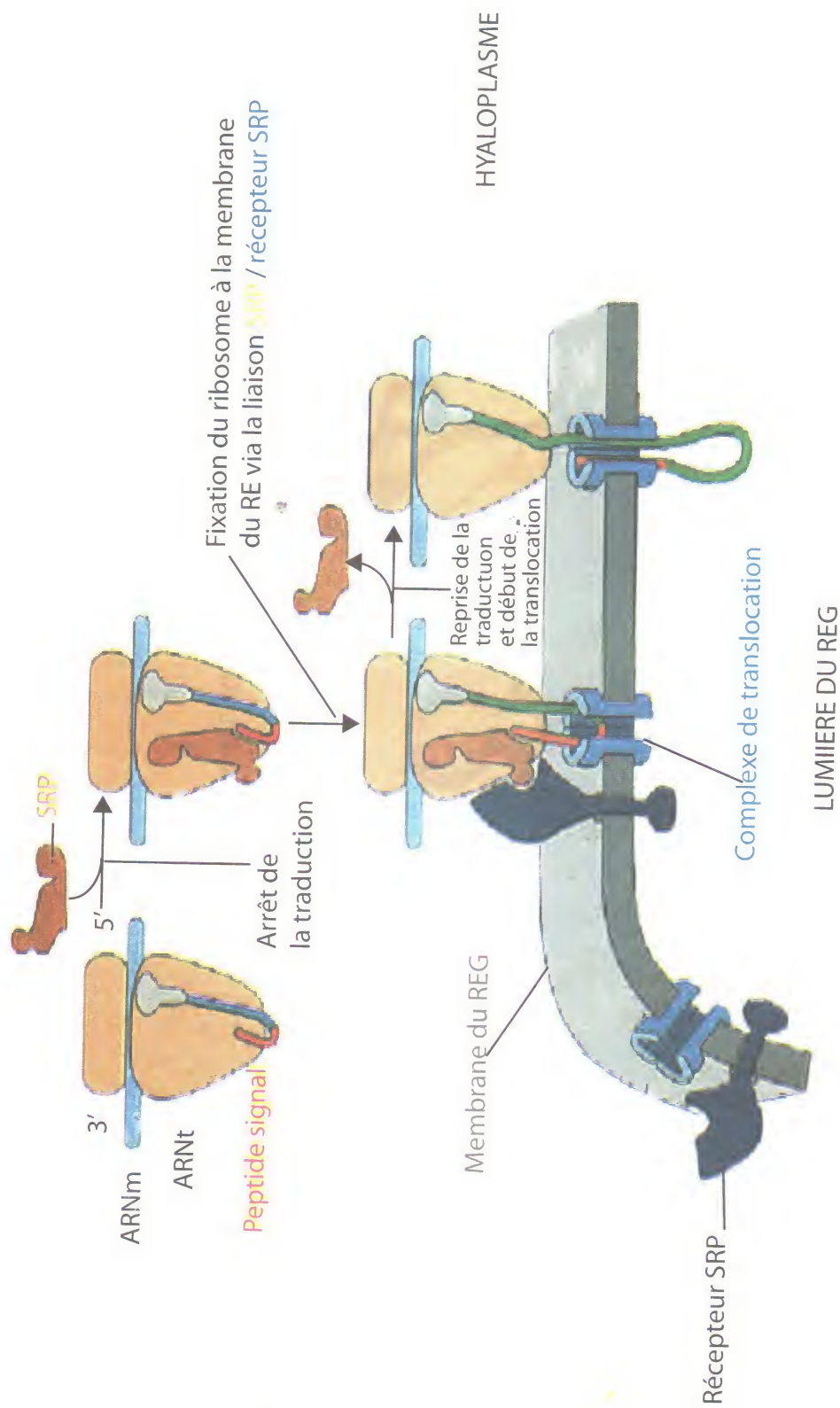


Planche I a: Initiation et adressage au REG des glycoprotéines solubles.

HYALOPLASME

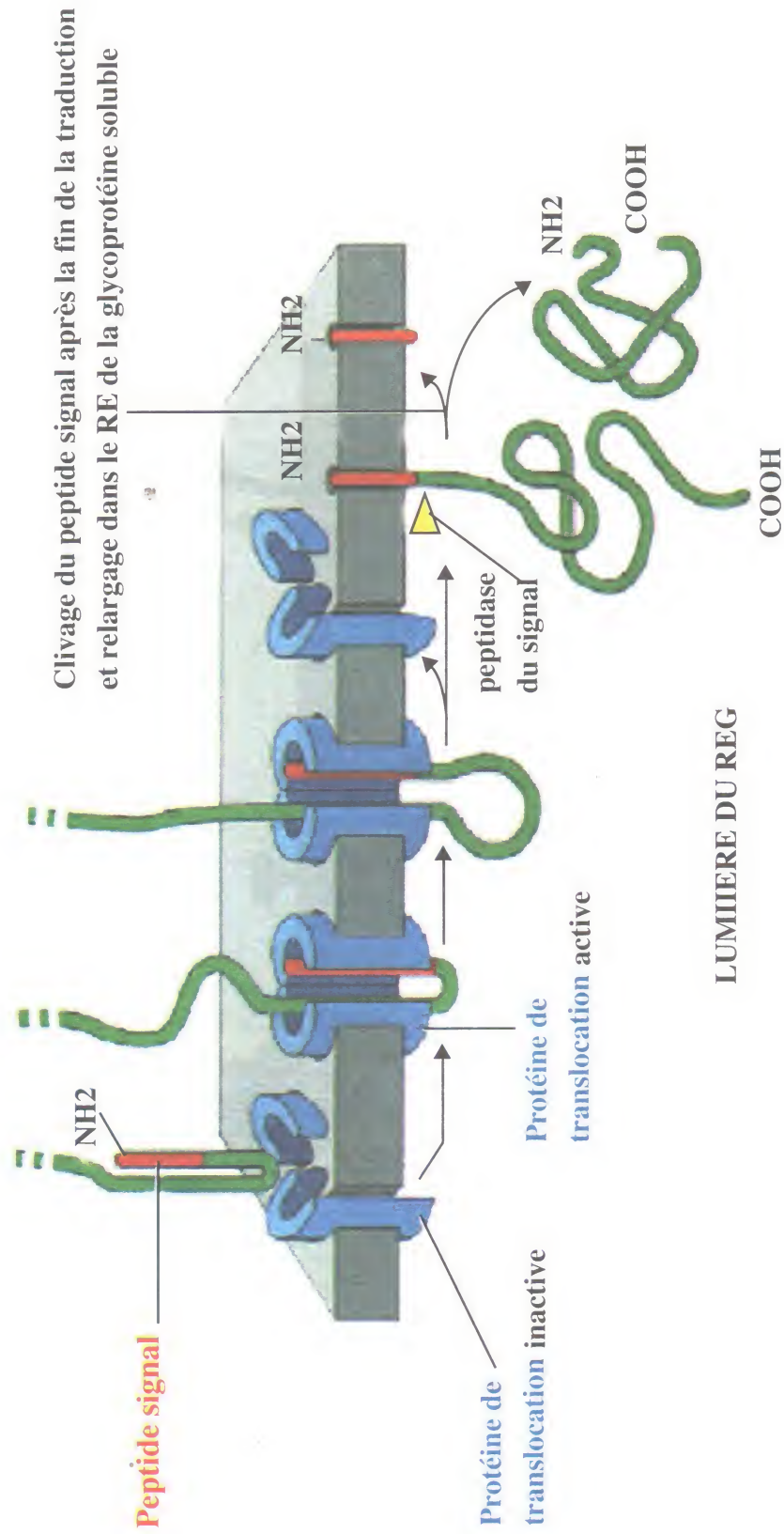


Planche I b : Translocation des glycoprotéines solubles dans la lumière du REG.

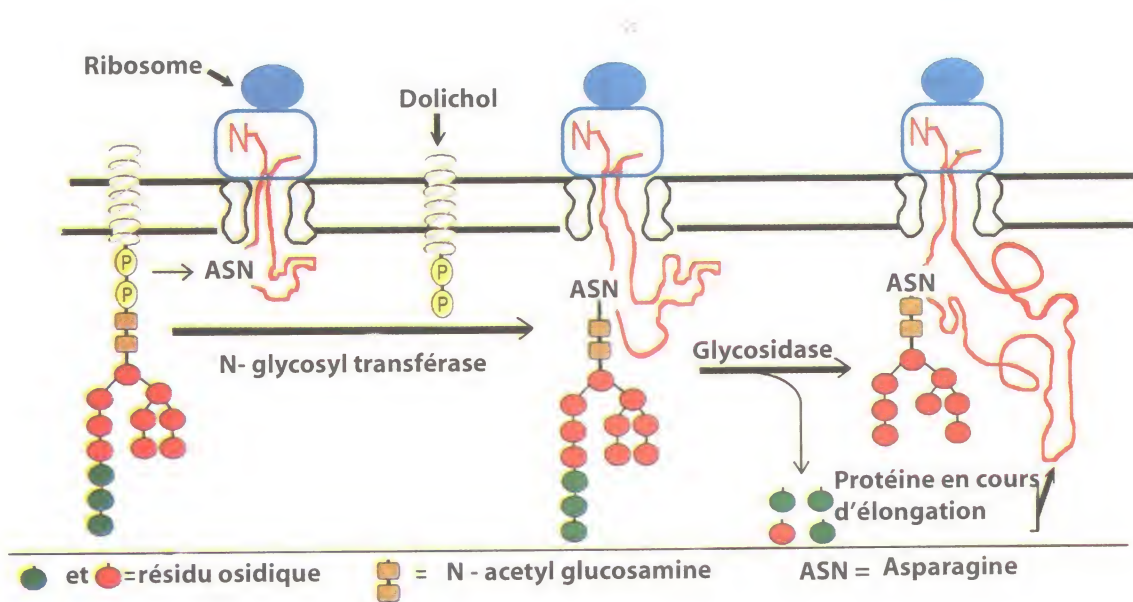


Schéma 3 : La N-glycosylation dans la lumière du réticulum endoplasmique.

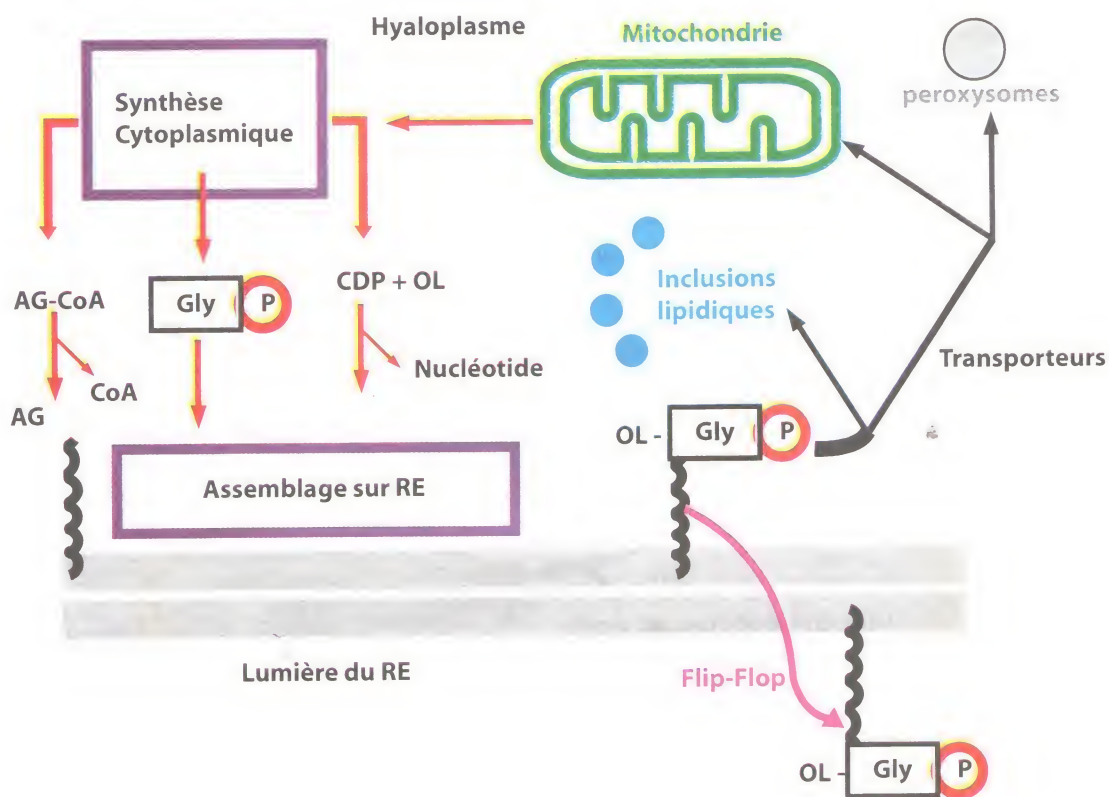


Schéma 4: Représentation de la biosynthèse et de l'adressage des phospholipides membranaires.

réticulum endoplasmique (RE), acides gras (AG), Coenzyme A (CoA), molécules à fonction alcool (OL), glycérol (Gly), nucléotide cytosine diphosphate (CDP), phosphate (P).

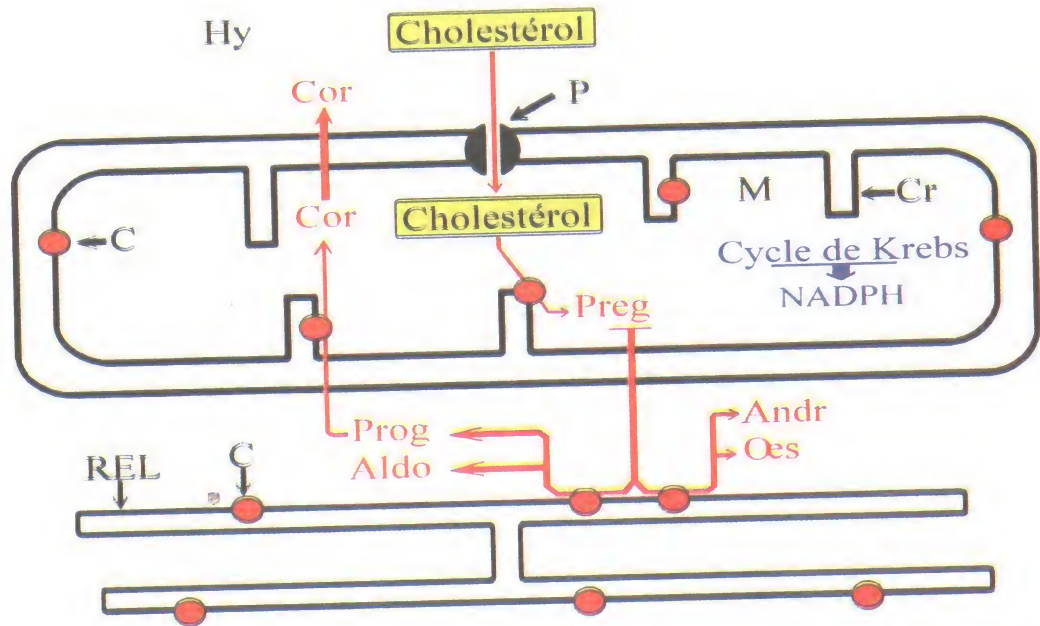


Schéma 5 : Synthèse des hormones stéroïdes.

Hy = Hyaloplasme; Cor = Cortisol; Preg = Prégénolone; C = Cytochrome P450; M = Matrice; Cr = Crête; Prog = Progestérone; Aldo = Aldostérone; Andr = Androgènes; Oes = Oestrogènes

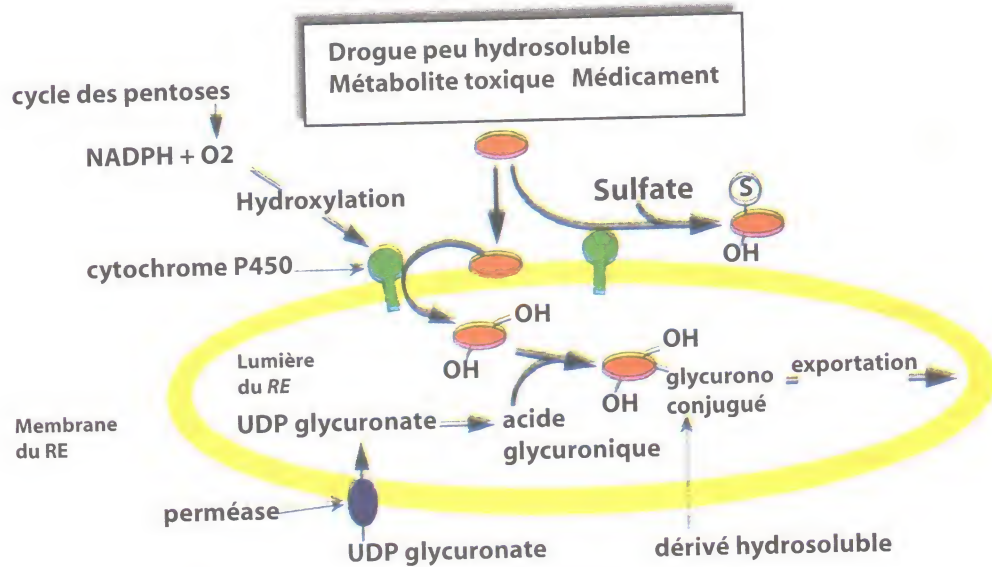


Schéma 6 : Processus de détoxification.

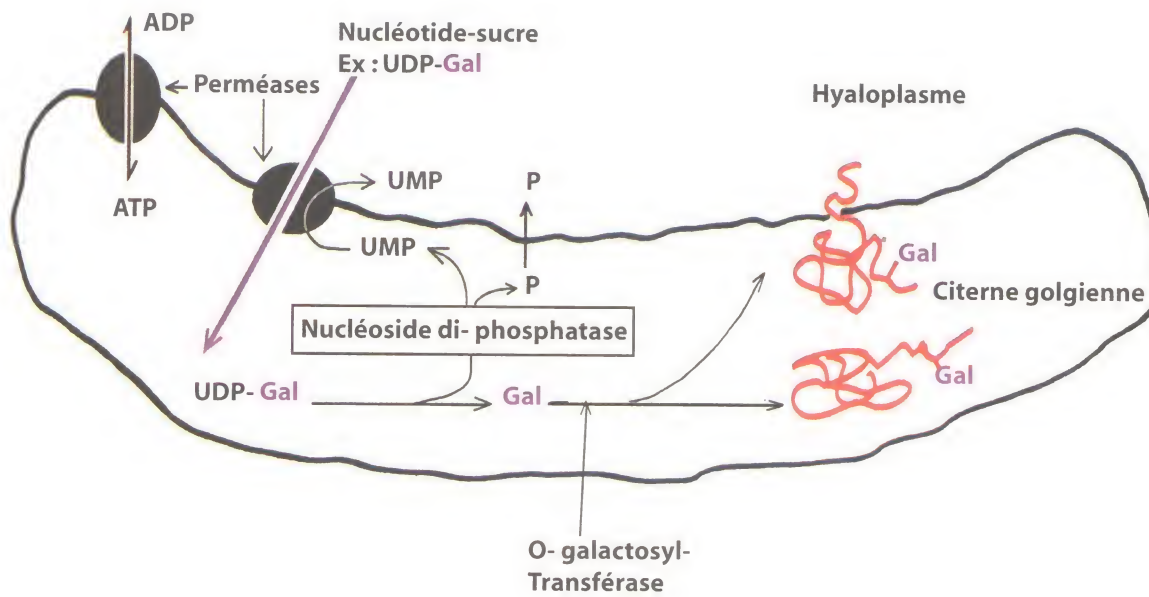


Schéma 9 : La O glycosylation.

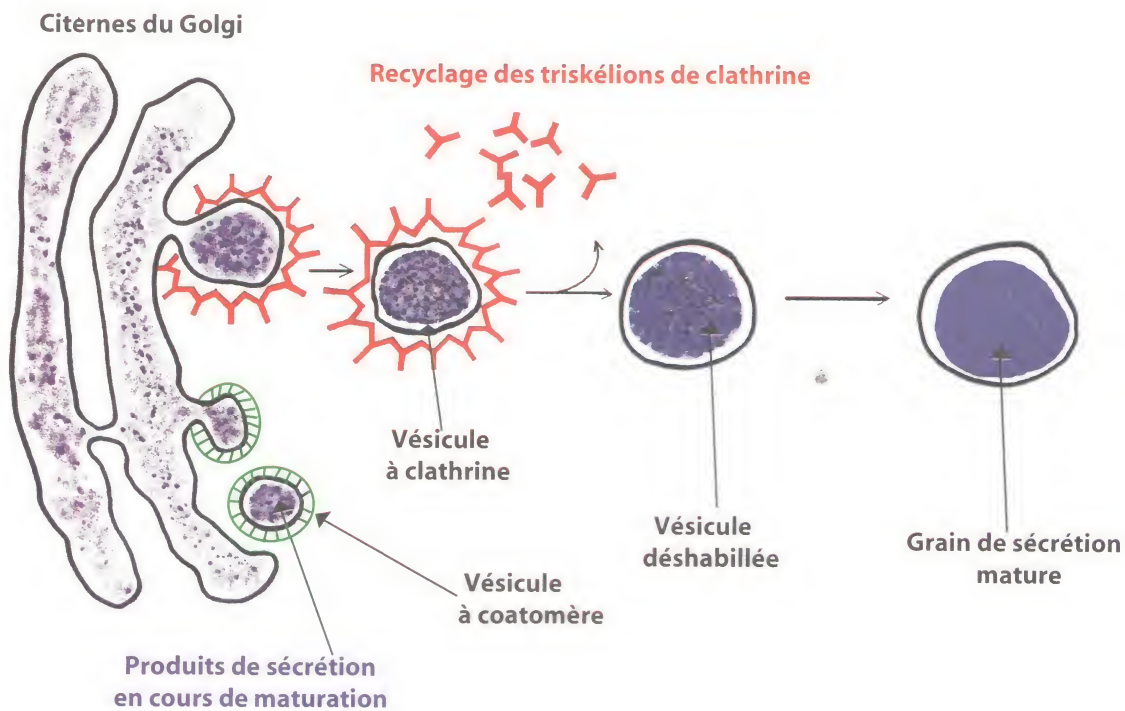


Schéma 10 : Emballage et maturation des produits de sécrétion.

Schéma 12 : Composition chimique des lysosomes.

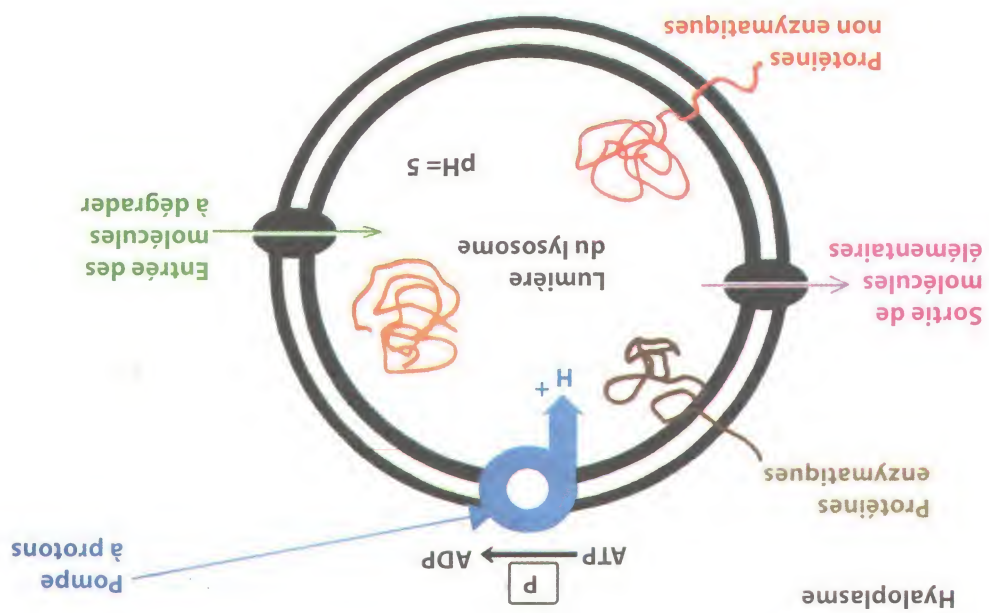
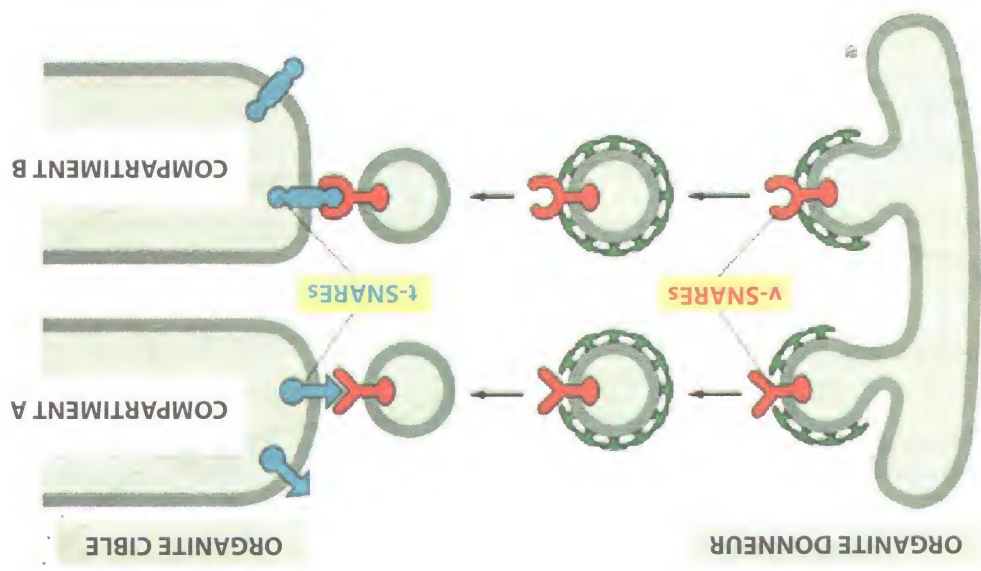


Schéma 11 : Mécanisme de reconnaissance de la membrane des vésicules à v-SNARES avec celle des t-SNARES.



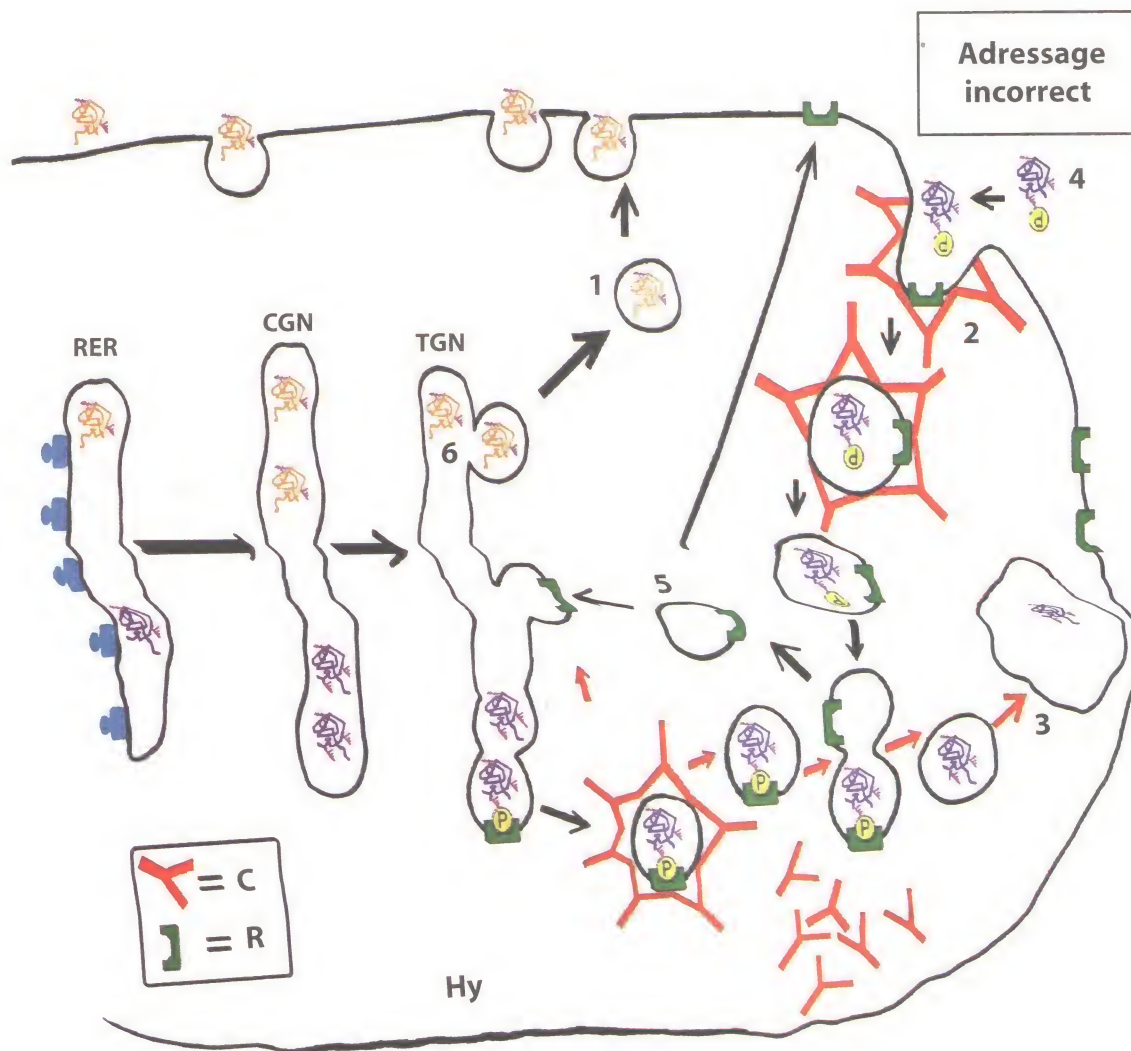


Planche IV : Adressage des enzymes lysosomales.

Légende :

1 = Exocytose ; 2 = Endocytose ; 3 = Lysosome ; 4 = enzyme lysosomal sécrété ;

5 = recyclage du récepteur du mannose 6 phosphate ; 6 = protéine de sécrétion ;

RER = réticulum endoplasmique rugueux ; CGN = Citernes Cis du Golgi ;

TGN = Citernes Trans du Golgi ; C = élément de clathrine ;

R = récepteur du mannose 6 phosphate ; Hy = hyaloplasme ;

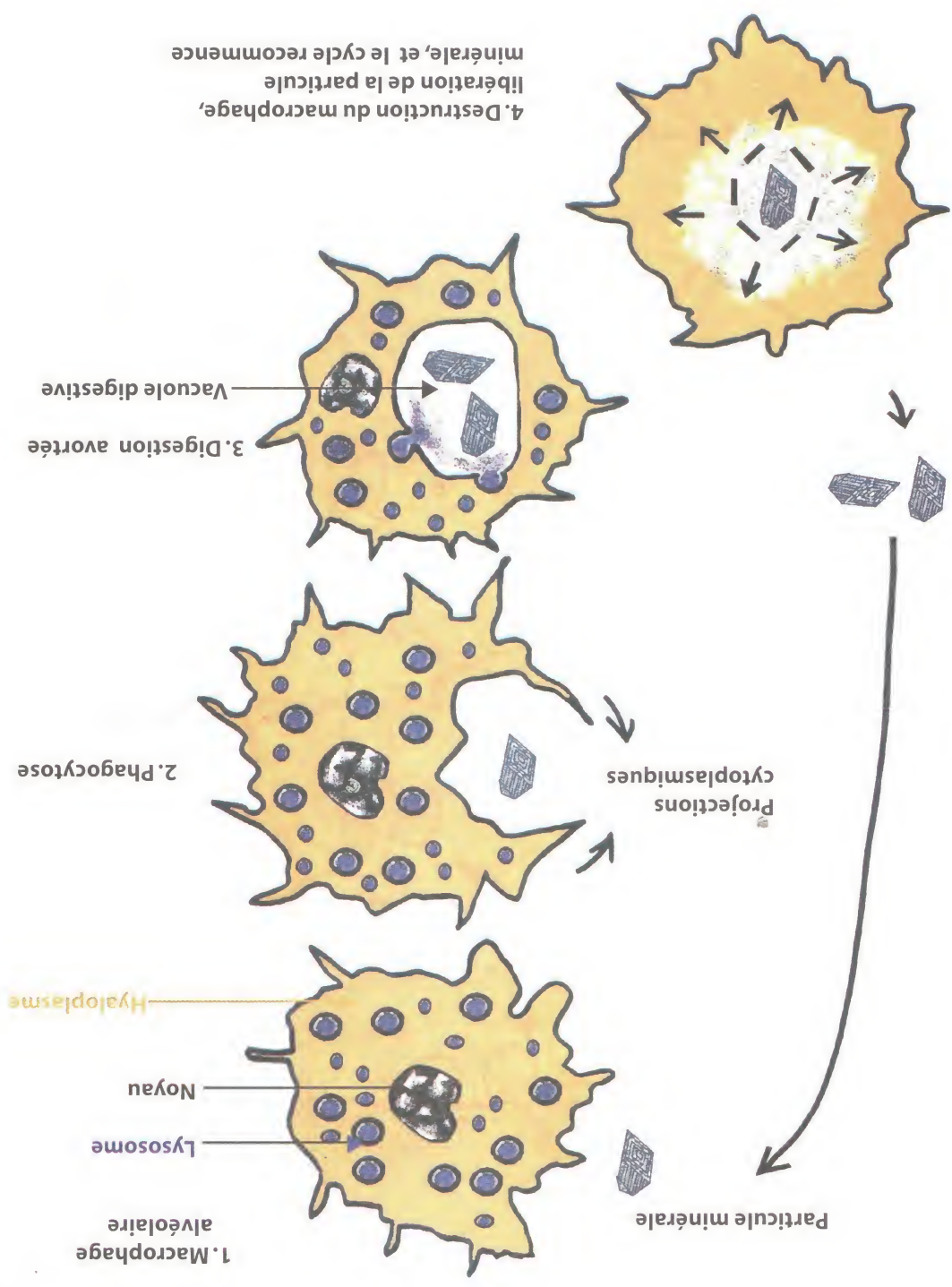


Planche V : La silicose.

LISTE DES FIGURES

IV - 11 11 11 11

Les références bibliographiques seront indiquées dans la fascicule 3.

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE IV : LE HYALOPLASME

Planche I :	Procédé d'isolement des composants du hyaloplasme	9
Planche II :	Les 3 voies métaboliques dont le Glucose-6-Phosphate est le carrefour obligatoire	11

CHAPITRE V : LE CYTOSQUELETTE

Schéma 1 :	Architecture moléculaire d'un microtubule	14
Schéma 2 :	Orientation des microtubules dans différents types cellulaires	14
<i>Schéma 3 :</i>	<i>Dynamique des microtubules</i>	57
<i>Schéma 4 :</i>	<i>Effet des drogues sur les microtubules labiles</i>	57
Schéma 5 :	Les MAP structurales	16
Schéma 6 :	Les MAP motrices	16
Schéma 7 :	Duplication des centrioles	17
<i>Schéma 8 :</i>	<i>Dynamique des microfilaments d'actine</i>	59
<i>Schéma 9 :</i>	<i>Tapis roulant</i>	59
<i>Schéma 10 :</i>	<i>Effet de la cytochalasine et de la phalloïdine sur les microfilaments d'actine</i>	61
Schéma 11 :	Les myosines I et II	22
<i>Schéma 12 :</i>	<i>Transport antérograde et rétrograde des vésicules synaptiques</i>	61
Schéma 13 :	Cinétique du battement du flagelle ou des cils	28
Planche I :	Représentation schématique du diplosome (a) et ultrastructure du centriole (b)	18
<i>Planche II :</i>	<i>Cellule ciliée au microscope photonique (a) et ultrastructure du cil après coupe longitudinale (b) et coupe transversale(c)</i>	58
Planche III :	Monomère d'actine (a) et polymérisation de l'actine G en actine F (b)	21
Planche IV :	Distribution des microfilaments d'actine dans les cellules non musculaires (a) et dans les cellules musculaires (b).	24
Planche V :	Protéines associées à l'actine dans les cellules non musculaires.	26

<i>Planche VI :</i>	<i>Protéines associées aux microfilaments d'actine dans les cellules musculaires</i>	60
<i>Planche VII</i>	<i>Distribution cellulaire (a) et ultrastructure des filaments intermédiaires (b)</i>	27
<i>Planche VIII:</i>	<i>Le transport vésiculaire</i>	31
<i>Planche IX :</i>	<i>Dynamique des microtubules du fuseau mitotique et mécanisme de séparation des chromosomes</i>	62
<i>Planche X :</i>	<i>La cytodierèse</i>	63
<i>Planche XI :</i>	<i>Le mécanisme moléculaire de la contraction musculaire</i>	32
<i>Planche XII :</i>	<i>Le mécanisme du mouvement amaeboïde</i>	64

CHAPITRE VI : LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

<i>Schéma 1 :</i>	<i>Représentation tridimensionnelle du système endomembranaire</i>	36
<i>Schéma 2 :</i>	<i>Procédé d'isolement du réticulum endoplasmique</i>	36
<i>Planche I a</i>	<i>Initiation et adressage au REG des glycoprotéines solubles</i>	65
<i>et I b:</i>	<i>La translocation des glycoprotéines solubles dans la lumière du REG</i>	66
<i>Schéma 3 :</i>	<i>La N-glycosylation dans la lumière du réticulum endoplasmique</i>	67
<i>Schéma 4 :</i>	<i>Représentation de la biosynthèse et de l'adressage des phospholipides membranaires</i>	67
<i>Schéma 5 :</i>	<i>Synthèse des hormones stéroïdes</i>	68
<i>Schéma 6 :</i>	<i>Processus de détoxification</i>	68
<i>Schéma 7 :</i>	<i>Représentation schématique de l'ultrastructure d'un dictyosome golgien</i>	43
<i>Schéma 8 :</i>	<i>Procédé d'isolement de fractions golgiennes</i>	43
<i>Schéma 9 :</i>	<i>La O-glycosylation</i>	69
<i>Schéma 10 :</i>	<i>Emballage et maturation des produits de sécrétion</i>	69
<i>Planche II :</i>	<i>Les flux membranaires</i>	47
<i>Schéma 11 :</i>	<i>Mécanisme de reconnaissance de la membrane des vésicules à v-SNARES avec celle des t-SNARES</i>	70
<i>Schéma 12 :</i>	<i>Composition chimique des lysosomes</i>	70

Schéma 13 :	Le remodelage cartilagineux	51
Planche III :	Les digestions autophagiques et hétérophagiques	50
<i>Planche IV :</i>	<i>Adressage des enzymes lysosomales</i>	71
<i>Planche V :</i>	<i>La silicose</i>	72

Les figures couleur sont indiquées en italique.

Achevé d'imprimer sur les presses de
**L'OFFICE DES PUBLICATIONS
UNIVERSITAIRES**
1, Place Centrale - Ben-Aknoun - ALGER

Mr ABDELALI Mohamed
Professeur en médecine
Spécialiste en Histologie--Embryologie et génétique à la faculté de Médecine d'Alger
Chef de service de Cytologie au C.H.U. d'Hussein Dey d'Alger.

Mme BENZINE-CHALLAM Hacina
Licenciée en Sciences Biologiques
Maître assistante
Chargée de cours à la faculté de Médecine d'Alger, Centre Biomédical -Dergana.

Mme MADOU-DEKAR Aïcha
Maître assistante

Chargée de cours à la faculté de Médecine d'Alger, Centre Biomédical -Dergana
Attachée de recherche à la faculté des sciences biologiques, Université Houari Boumediene

Edition : P / n° 4863
Prix : 264 DA

